



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN SCIENZE E TECNOLOGIE ANIMALI

Dipartimento di Agronomia Animali Alimenti Risorse Naturali e Ambiente

TESI DI LAUREA

EFFETTO DELLA DURATA DEL TRASPORTO E DELL'ATTESA PRE- MACELLAZIONE SU BENESSERE ANIMALE E QUALITA' DELLA CARNE NEL CONIGLIO

Relatore: **PROF.SSA ANGELA TROCINO**

Correlatore: **PROF.SSA DANIELA BERTOTTO**

Laureando: GIULIA ZAIA

Matricola n. 1106420

ANNO ACCADEMICO 2015-2016

Indice

RIASSUNTO	3
ABSTRACT	5
INTRODUZIONE	7
PRODUZIONE, ALLEVAMENTO E GESTIONE DEL CONIGLIO DA CARNE	7
<i>Il coniglio domestico</i>	7
<i>Il mercato delle produzioni cunicole</i>	8
<i>Sistemi di allevamento</i>	10
<i>Trasporto e macellazione</i>	13
<i>Benessere del coniglio in allevamento</i>	17
QUALITÀ DELLA CARNE DI CONIGLIO E FATTORI IN GRADO DI MODIFICARLA	19
<i>Trasformazione del muscolo in carne e qualità della carne di coniglio</i>	19
<i>Tecnica di allevamento e qualità della carne</i>	21
<i>Trasporto pre-macellazione e qualità della carne</i>	23
<i>Macellazione e qualità della carne</i>	25
OBIETTIVI	27
MATERIALI E METODI	29
ANIMALI E DISEGNO SPERIMENTALE	29
RILIEVI PRE-MACELLAZIONE	31
MACELLAZIONE E RILIEVI ALLA MACELLAZIONE	31
QUALITÀ DELLA CARCASSA E QUALITÀ DELLA CARNE	32
INDICATORI FISIOLÓGICI DI STRESS	34
<i>Prelievo del pelo</i>	34
<i>Prelievo ematico</i>	35
<i>Prelievo campioni di muscolo</i>	35
<i>Analisi degli indicatori plasmatici</i>	35
<i>Determinazione dei glucocorticoidi</i>	36
<i>Determinazione degli indicatori di stress ossidativo</i>	38
ANALISI STATISTICA	38
RISULTATI E DISCUSSIONE	39
RISULTATI	39
<i>Prestazioni alla macellazione, qualità della carcassa e qualità della carne</i>	39
<i>Indicatori fisiologici di stress</i>	45
DISCUSSIONE	49
CONCLUSIONI	53
BIBLIOGRAFIA	55

Riassunto

Allo scopo di valutare l'effetto delle modalità di trasporto su qualità del prodotto e benessere del coniglio, 320 conigli di un carico commerciale sono stati macellati a 84 giorni di età dopo essere stati sottoposti a diversa durata del trasporto (1 ora vs 3 ore) e dell'attesa pre-macellazione (30 minuti vs 3 ore) e controllando l'effetto della collocazione in altezza delle gabbie (superiori vs inferiori) e della posizione delle stesse gabbie (esterna vs interna) sul camion. Sono stati analizzati risultati di macellazione, qualità della carcassa e della carne e indicatori fisiologici di stress su diverse matrici quali sangue, pelo e muscolo.

L'aumento della durata del trasporto ha determinato una diminuzione del peso dei conigli al macello (2936 g vs 2849 g; $P<0,01$) ed un incremento della resa di macellazione (61,3% vs 61,9%; $P<0,01$), e del pH della carne, sia sul *longissimus lumborum* (5,64 vs 5,74; $P<0,01$) che sul *biceps femoris* (5,90 vs 6,01; $P<0,01$), una riduzione della luminosità sul *l. lumborum* (49,8 vs 47,6; $P<0,01$) e sul *b. femoris* (48,0 vs 47,4; $P<0,01$). L'aumento della durata del trasporto ha anche determinato una significativa riduzione delle perdite di scongelamento (2,24% vs 1,90%; $P<0,001$) misurate sui lombi.

Il prolungamento dell'attesa pre-macellazione ha incrementato la resa di macellazione (61,4% vs 61,9%; $P=0,03$) e l'incidenza dei lombi sulla carcassa di riferimento (13,2% vs 14,4%; $P=0,04$), oltre che il pH del *b. femoris* (5,89 vs 6,02; $P=0,03$). Inoltre, sono diminuite le perdite di cottura (dal 30,9% al 29,1%; $P<0,001$) e lo sforzo massimo di taglio (5,39 kg/g vs 4,13 kg/g; $P<0,001$) nella carne dei lombi, e le perdite di cottura nella carne degli arti posteriori sono aumentate (24,9% vs 25,5%; $P=0,04$). Per quanto riguarda l'altezza delle gabbie sul camion, sono stati misurati un significativo aumento della resa di macellazione (61,1% vs 62,1%; $P<0,001$) e dell'indice del rosso nel *b. femoris* (-2,80 vs -2,64; $P=0,02$) dei conigli che hanno viaggiato all'interno delle gabbie collocate in posizione inferiore rispetto a quelli in posizione superiore. La posizione interna ed esterna delle gabbie-trasporto sul camion ha influito solamente sulla colorazione del *l. lumborum*, con un aumento degli indici del rosso e del giallo (-2,54 vs -2,22; $P=0,02$ e -0,16 vs 0,73; $P=0,03$) nei conigli all'interno delle gabbie in posizione esterna rispetto a quelli in posizione interna al carico.

L'analisi degli indicatori fisiologici di stress ha evidenziato una significativa diminuzione del livello di corticosterone nel plasma dei conigli soggetti a trasporto lungo (da 15,3 ng/ml a 10,1 ng/ml; $P<0,01$) ed un aumento della concentrazione di cortisolo a livello muscolare (da 1,40 ng/g a 1,70 ng/g; $P=0,03$). Il livello di corticosterone del pelo, invece, ha avuto un

significativo incremento con il prolungamento dell'attesa pre-macellazione (69,3 ng/g vs 111,7 ng/g; $P < 0,001$) e nel caso dei conigli nelle gabbie in posizione inferiore sul camion (46,6 ng/g vs 134,4 ng/g; $P < 0,001$).

In conclusione, le modalità di trasporto possono influenzare i risultati di macellazione e la qualità della carcassa e della carne, oltre che la condizione generale di stress dei conigli. In generale, la durata del trasporto e l'attesa pre-macellazione sono i fattori più importanti e l'aumento della loro durata può anche tradursi in un miglioramento delle condizioni degli animali e della qualità della carne, per lo meno nelle condizioni testate, con trasporti e attese di durata minima o moderata e in condizioni microclimatiche relativamente favorevoli. In quanto alla collocazione delle gabbie all'interno del camion durante il trasporto, l'esposizione agli agenti esterni sembra avere un ruolo piuttosto insignificante, mentre l'effetto della collocazione delle gabbie in altezza (in cima o alla base del pallet di gabbie) necessita di ulteriori indagini e conferme.

Abstract

Effect of transport and lairage duration on welfare and meat quality in rabbits

With the aim of evaluating the effect of transport conditions on product quality and rabbit welfare, 320 rabbits of a commercial farm were slaughtered at 84 d of age after a transport of different duration (1 hour vs 3 hours) and a different lairage (30 minutes vs 3 hours), controlling also the effects of the position of transport cages on the truck (bottom vs top and external vs internal). Slaughter, carcass and quality meat results and stress biomarkers on different matrices, such as blood, hair and muscle, were measured.

The increase of the transport duration decreased rabbits live weight at the slaughterhouse (2936 g vs 2849; $P<0.01$), increased dressing out percentage (61.3% vs 61.9%; $P<0.01$) and meat pH, both on *longissimus lumborum* (5.64 vs 5.74; $P<0.01$) and *biceps femoris* (5.90 vs 6.01; $P<0.01$) muscles; and decreased lightness on *l. lumborum* (49.8 vs 47.6; $P<0.01$) and *b. femoris* (48.0 vs 47.4; $P<0.01$). The increase of the transport duration also significantly reduced loins thawing losses (2.24% vs 1.90%; $P<0.001$).

The extension of the lairage duration increased the dressing out percentage (61.4% vs 61.9%; $P=0.03$) and the loins incidence on the reference carcass (13.2% vs 14.4%; $P=0.04$), as well as the *b. femoris* pH (5.89 vs 6.02; $P=0.03$); and decreased the cooking losses (30.9% to 29.1%; $P<0.001$) and the shear force (5.39 kg/g vs 4.13 kg/g; $P<0.001$) on the loins meat and increased the cooking losses on the hind legs meat (24.9% vs 25.5%; $P=0.04$).

As what concerns the position of transport cages on the truck, the rabbits which travelled in the cages located on the bottom position compared to the ones which travelled in the top position showed a significant increase of the dressing out percentage (61.1% vs 62.1%; $P<0.001$) and of the red index on the *b. femoris* (-2.80 vs -2.64; $P=0.02$). The external and internal position of the transport-cages on the truck only influenced the *l. lumborum* color, with an increase of the red and yellow indexes (-2.54 vs -2.22; $P=0.02$ and -0.16 vs 0.73; $P=0.03$) in the meat of rabbits located in the external cages compared to those in the internal cages.

The stress biomarkers analysis underlined a significant reduction of the blood corticosterone level in the rabbits transported for a longer time (15.3 ng/ml to 10.1 ng/ml; $P<0.01$) and an increase of the muscle cortisol level (1.40 ng/g to 1.70 ng/g; $P=0.03$). The hair

corticosterone level, conversely, significantly increased in the rabbits submitted to the longer lairage (69.3 ng/g vs 111.7 ng/g; $P<0.001$) and in the rabbits in the bottom cages compared to those in the top cages on the truck (46.6 ng/g vs 134.4 ng/g; $P<0.001$).

In conclusion, the transport conditions can influence the slaughter results and the carcass and meat quality, as well as the rabbits general stress condition. In general, transport and lairage are the most important factors and the increase of their duration could improve animal conditions and meat quality, at least under our conditions i.e. a minimal or moderate duration of transport and lairage in relatively favorable climatic conditions. As what concerns, the transport cages position on the truck, the exposure to the external agents seems to be irrelevant, whereas differences between rabbits in top and bottom cages needs further investigation.

Introduzione

Produzione, allevamento e gestione del coniglio da carne

Il coniglio domestico

Il coniglio domestico attualmente allevato deriva dal coniglio selvatico europeo (*Oryctolagus cuniculus*, Linnaeus, 1758), appartenente all'ordine dei Lagomorfi (Figura 1) e non all'ordine dei Roditori. Entrambi gli ordini presentano grossi incisivi ricurvi, ma se nei Roditori ne è presente un solo paio, nei Lagomorfi c'è una seconda piccola coppia appoggiata posteriormente agli incisivi principali (Trocchi e Riga, 2005).



Figura 1. Coniglio domestico (*Oryctolagus cuniculus*) (vertebradosibericos.it).

I Lagomorfi sono divisi in due Famiglie, quella degli Ocotonidi e quella dei Leporidi all'interno della quale ritroviamo la specie del coniglio selvatico europeo.

Morfologicamente hanno una conformazione compatta, con occhi laterali, orecchie con padiglione relativamente ampio ed arti posteriori più lunghi di quelli anteriori.

L'area geografica di origine sembra essere la Penisola iberica e a causa dell'intervento dell'uomo questi animali sono ora ampiamente diffusi in gran parte del mondo, grazie all'elevata prolificità della specie e alla propria capacità di adattamento alle diverse condizioni climatiche ed ambientali. Dall'Europa Sud-Occidentale il coniglio selvatico europeo si è diffuso con facilità in molte aree del continente ed è attualmente presente nella maggior parte degli stati europei, dai caldi climi dell'Italia meridionale, fino a regioni più fredde come quelle di Norvegia e Svezia. In epoca più recente è stato introdotto anche in Marocco ed Algeria, Nuova Zelanda, Australia e Cile (Trocchi e Riga, 2005).

Le prime testimonianze di allevamento del coniglio selvatico risalgono all'epoca romana grazie a Marco Terenzio Varrone (116-27 a.C). Questi animali venivano allevati allo stato semi-brado in grandi recinti all'aperto chiamati *leporaria*, all'interno dei quali convivevano con lepri, ovini e cervi (Zoccarato, 2008).

Il vero e proprio processo di addomesticamento iniziò probabilmente nel Medioevo ad opera dei monaci francesi i quali selezionarono i conigli in base alle loro caratteristiche funzionali (taglia e mantello) e di docilità, ma è soprattutto dalla seconda metà dell'800, grazie allo studio delle leggi di Mendel, che iniziò la selezione di nuove razze morfologicamente molto diverse tra di loro (Trocchi e Riga, 2005; Zoccarato, 2008).

Le razze pure sono oggi suddivise in pesanti (>5 kg), intermedie (4-5 kg), leggere (2,5-4 kg) e nane (<2,5 kg) secondo il peso dell'animale adulto e vengono ormai quasi esclusivamente utilizzate per scopi amatoriali, con l'obiettivo di conservare determinati *standard* morfologici. Dal coniglio domestico europeo sono derivate numerose razze riconosciute su scala mondiale e 43 di queste sono riconosciute dall'Associazione Nazionale Coniglicoltori Italiani (ANCI). Tra le razze da carne citiamo per esempio: Nuova Zelanda Bianca, Californiana e Gigante di Fiandra, mentre tra quelle da pelliccia ricordiamo le razze Angora, Rex e Satin.

Non in tutti i paesi il coniglio è considerato un animale per la produzione di carne o pelliccia, motivo per cui sono presenti anche razze che vengono allevate come animali da affezione, quali le razze Ariete Nano, Ermellino, Hot Hot Nano.

Il mercato delle produzioni cunicole

Dalla seconda metà del 1900 le produzioni zootecniche hanno subito un crescente processo di intensificazione che ha interessato anche il comparto cunicolo, in cui è aumentato il livello di specializzazione produttiva. Dalle razze pure precedentemente citate si è passati agli incroci industriali ottenuti dall'incrocio a due o tre vie di femmine di razze ritenute meglio dotate di caratteristiche riproduttive (fertilità, prolificità, produzione latte, ecc.) con maschi di razze più idonee a trasmettere caratteri di prestazione (velocità di accrescimento, buoni indici di conversione, buone rese di macellazione, ecc.) (Finzi e Gualterio, 2008).

Dalla metà degli anni '80 si è diffuso l'impiego di *ibridi commerciali* prodotti da appositi centri genetici altamente specializzati che hanno portato un importante vantaggio all'allevatore che è quello di non dover più selezionare gli animali nel proprio allevamento,

eliminando tutte le problematiche connesse. I conigli inoltre risultano più produttivi perché vengono accentuati gli effetti positivi dell'eterozigosi.

La produzione cunicola si è notevolmente trasformata nel tempo ed attualmente a livello mondiale è il continente asiatico che detiene, grazie alla Cina (727 000 ton) (FAO, 2013), il primato produttivo.

Stando alle ultime statistiche rilasciate dalla FAO, la produzione mondiale di carne di coniglio è di 1 781 000 ton e ripartita come in Tabella 1.

A livello europeo la produzione totale si mantiene relativamente costante, anno dopo anno, ed i tre principali paesi produttori sono Italia, Spagna e Francia. Il nostro paese detiene il primo posto con il 47% della produzione.

Tabella 1. Suddivisione delle produzioni mondiali di carne cunicola nei diversi continenti (faostat3.fao.org).

AREA	TON (x 1000)	%
EUROPA	514	29
ASIA	886	48
AFRICA	84	5
AMERICA	297	18
Totale	1 781	100

A livello italiano, le produzioni cunicole, con un totale di 262 500 tonnellate di carne prodotta (FAO, 2013), sono al quinto posto dopo le produzioni dei settori suinicolo, bovino e avicolo (FAO, 2012). Gli allevamenti intensivi sono circa 8000 (da 100 a 400 fattrici), di cui 1693 professionali o grandi allevamenti (>400 fattrici) distribuiti sul territorio nazionale come riportato in Tabella 2.

La regione leader è il Veneto, dove gli allevamenti si trovano in gran parte localizzati nelle provincie di Treviso, Padova, Verona, Venezia e Vicenza.

In Italia il peso vivo medio dell'animale alla macellazione è di circa 2,5-2,6 kg, con variazioni in funzione delle regioni: nelle regioni meridionali viene prodotto un coniglio leggero macellato intorno ai 2 kg; nel Centro un coniglio medio-pesante di circa 2,4-2,5 kg; nelle regioni del Nord invece viene prodotto un coniglio pesante macellato al peso vivo di 2,6-3,0 kg (FNOVI, 2010).

Tabella 2. Allevamenti industriali italiani di conigli (FNOVI, 2010)

Aree	Quantità	%
Nord	1281	75,66
Veneto	620	36,62
Emilia Romagna	230	13,58
Piemonte	206	12,16
Lombardia	164	9,7
Centro	218	12,87
Sud	194	11,63
Totale	1693	100

La resa di macellazione varia fra il 55% e il 60% e l'età di macellazione dalle 11 alle 13 settimane (77-91 d) (Trocino e Xiccato, 2000).

Il consumo annuo pro capite nazionale fino a una decina di anni fa era di circa 4 kg, superiore rispetto a quello europeo di 1,5 kg; ancora oggi l'Italia può definirsi autosufficiente poiché le produzioni di carni cunicole soddisfano interamente i consumi (Zoccarato, 2008).

Sebbene il nostro paese sia autosufficiente per la produzione di carne cunicola, vi sono comunque dei minimi flussi di mercato con altri paesi, sia in termini di import che di export. Nel 2015 l'import di carne cunicola registrato da ISMEA è stato circa di 2600 ton, provenienti principalmente da Francia ed Ungheria, mentre la quantità di carne esportata è stata pari allo 0,3% della produzione nazionale, destinata soprattutto a Malta e Germania.

Sistemi di allevamento

Le modalità di allevamento del coniglio sono mutate molto nel corso del tempo: i modelli attuali di gestione sono comparsi negli anni '50 e si sono affermati negli anni '70, quando si è concretizzato l'utilizzo di allevamenti di tipo industriale e intensivo, grazie alla comparsa degli incroci industriali di conigli provenienti da razze pure, abbandonando sempre di più quelli di tipo familiare/rurale (Trocino e Xiccato, 2000; Finzi e Gualterio, 2008).

Ciò che ha permesso l'evoluzione dei sistemi di allevamento sono stati certamente il miglioramento delle tecniche applicate, l'introduzione di incroci industriali (ibridi commerciali) sempre più produttivi, lo studio di modelli alimentari sempre più efficienti e differenziati in base allo stadio di crescita degli animali, l'applicazione della ciclizzazione della riproduzione e dell'inseminazione artificiale.

La ciclizzazione della riproduzione, infatti, è un modello gestionale utilizzato negli allevamenti di tipo intensivo che prevede la suddivisione del parco fattrici in gruppi (bande),

sottoposti allo stesso ritmo produttivo, ma scalati, in modo da ottimizzare l'utilizzazione delle strutture e della manodopera.

Nel caso di un interparto di 42 giorni e con inseminazione 12 giorni *post-partum*, le tipologie di cicizzazione possono prevedere:

- 6 gruppi di fattrici sfalsati tra loro di 1 settimana;
- 2 gruppi di fattrici sfalsati tra loro di 3 settimane;
- banda unica che partorisce ogni 42 giorni.

I vantaggi correlati all'applicazione dei fattori dei moderni sistemi di allevamento sono numerosi, di tipo sanitario (maggiore pulizia, maggiore distacco fattrice-coniglietti, minore mortalità), tecnico (ottimizzazione delle caratteristiche delle gabbie e dell'ambiente, controlli costanti sugli animali, professionalità del personale), nutrizionale (aumento efficienza dei mangimi, diversi modelli alimentari a seconda delle categorie) ed economico (riduzione della manodopera, aumento fertilità e produttività, miglioramento dell'indice di conversione alimentare, programmazione degli acquisti e delle vendite dei conigli, omogeneità dei conigli alla vendita).

I conigli sono allevati in gabbie in ferro zincato a uno o più piani sia nel settore riproduzione che nel settore ingrasso.

Le tipologie di gabbie sono numerose e si differenziano in base all'età o alla fase produttiva. Ci sono le "gabbie per riproduttori", le "gabbie per fattrici in rimonta" o "allattanti con nidata" (nel secondo caso la superficie a disposizione è maggiore), le gabbie "da svezzamento", le gabbie "autosvezzanti" e le gabbie "da ingrasso" che possono essere *mono* o *bicellulari*; le gabbie da ingrasso bicellulari sono normalmente utilizzate negli allevamenti italiani (Marongiu, 2008).

Tuttavia esistono anche dei sistemi alternativi di stabulazione chiamati a *colonia*, i quali prevedono la crescita degli animali in gruppo, generalmente tra i 7 ed i 9 individui.

Per quanto riguarda la regolamentazione esistente sul benessere dei conigli in allevamento intensivo, non esiste una norma europea o italiana specifica per il coniglio. Sono disponibili le Linee Guida del Ministero della Salute pubblicate a luglio del 2014 con carattere di guida e orientamento, ma non obbligatorie. Il Decreto legislativo n.146 che attua la Direttiva 89/58/CE relativa alla protezione degli animali negli allevamenti, un documento generico e non specifico per la specie cunicola, è comunque di riferimento per le misure minime da osservare negli allevamenti per la protezione degli animali. A livello europeo, è stata l'EFSA (*European Food and Safety Authority*) il primo organo tecnico che nel 2005, su delega della

Commissione europea, ha elaborato un dossier tecnico-scientifico sull'effetto dei fattori di allevamento sul benessere dei conigli in allevamento intensivo. Le conclusioni e le raccomandazioni dell'EFSA riguardano anche aspetti genetici, riproduttivi ed alimentari, le pratiche da utilizzare nella fase di svezzamento e le misure generali per il controllo delle patologie (EFSA, 2005).

All'interno del documento pubblicato dall'EFSA *The Impact of the current housing and husbandry systems on the health and welfare of farmed domestic rabbits* del 2005, viene scritto che è da preferirsi l'allevamento in colonia e le gabbie dovrebbero avere una larghezza di 35-40 cm, una lunghezza di 75-80 cm ed un'altezza di 38-40 cm. Le gabbie bicellulari italiane sono caratterizzate da dimensioni inferiori. Nella Tabella 3 sono presentate le misure proposte dall'European Food and Safety Authority, dal Ministero della Salute italiano e le misure delle gabbie normalmente presenti nei nostri allevamenti:

Tabella 3. Normativa italiana e raccomandazioni europee sulle dimensioni delle gabbie in contrapposizione con la grandezza delle gabbie attualmente in uso in Italia.

	Larghezza	Lunghezza	Altezza	Spazio disponibile
EFSA ,2005	35-40 cm	75-80 cm	38-40 cm	625 cm ² (3500 cm ² *)
Ministero della Salute, 2014	35 cm	75 cm	25 cm	4400 cm ² *
In uso	25-28 cm	43 cm	28-30 cm	600 cm ²

*Area minima in ogni sistemazione inclusa piattaforma ove disponibile.

La disposizione delle gabbie all'interno dell'allevamento deve garantire la facile gestione dei conigli da parte del personale, i cui principali compiti sono la somministrazione del mangime e dell'acqua, il controllo generale periodico, lo smaltimento delle deiezioni e l'allontanamento degli eventuali soggetti morti.

Le soluzioni più diffuse prevedono:

-*Flat-deck*: le gabbie sono disposte in fila su di un unico piano. Sistema solitamente utilizzato per le fattrici perché permette il facile controllo dei nidi e degli animali, c'è una corretta circolazione dell'aria ed un buon livello di illuminazione (Marongiu, 2008) (Figura 2a);

-*California*: le gabbie sono disposte in fila su due piani sfalsati formando una struttura piramidale. In questo modo le deiezioni non cadono sopra la gabbia sottostante, ma cadono

liberamente in fosse predisposte sotto le gabbie stesse (Marongiu, 2008). Questa disposizione permette una maggiore concentrazione di animali e viene applicata per le gabbie polifunzionali o per le gabbie da ingrasso (Figura 2b);

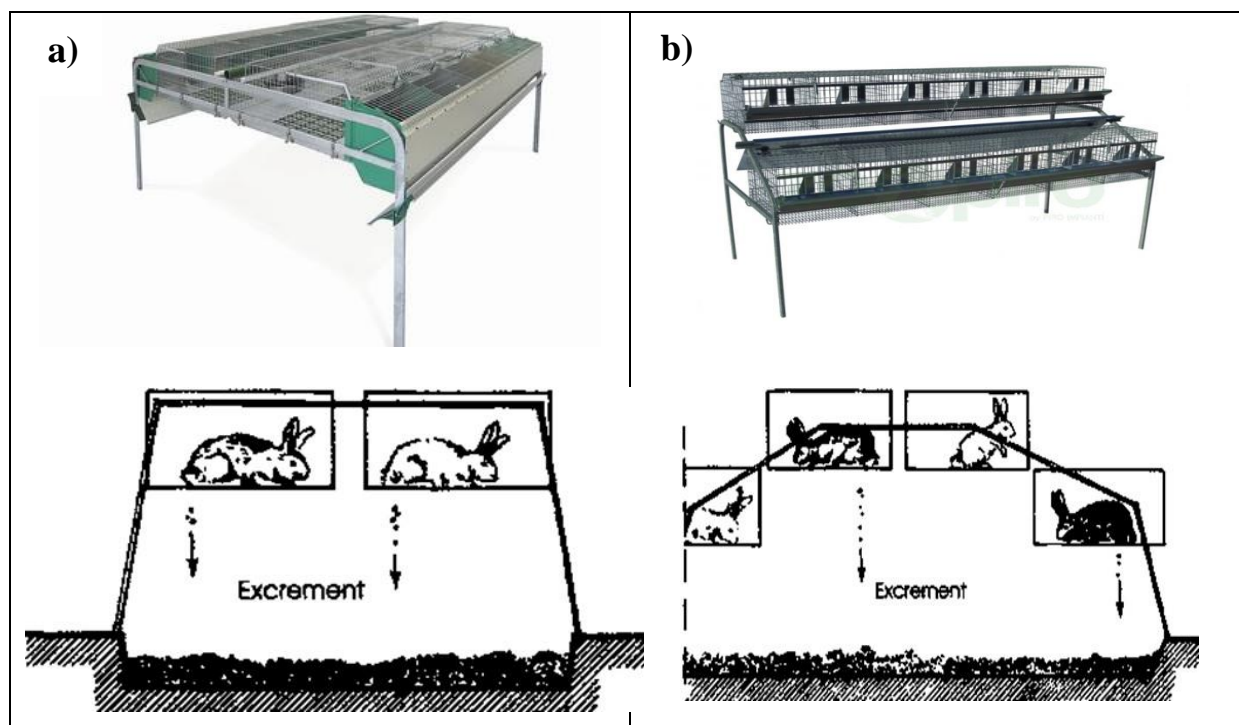


Figura 2. Modelli di gabbie a) Flat-deck e b) California (meneghin.it; slideplayer.it).

Il *management* degli animali è un fattore di estrema importanza all'interno degli allevamenti perché una corretta gestione permette anche un adeguato sviluppo fisico e produttivo. Le Linee Guida del Ministero della Salute dicono che “*Lo spazio disponibile per i conigli deve tener conto di età, sesso, razza, peso vivo, dimensione del gruppo, necessità in termini di ambiente, di muoversi liberamente per evitare anomalie scheletriche e di assumere un comportamento normale, compreso il comportamento sociale*” (Ministero della Salute, 2014).

Trasporto e macellazione

L'Unione Europea ha prodotto ed emanato negli anni una serie di regolamenti, report scientifici e raccomandazioni volti a tutelare le condizioni degli animali durante il trasporto per ridurre quanto più possibile le sofferenze e lo stress che spesso si verificano in questa fase (Tabella 4).

Tabella 4. Legislazione dell’Unione Europea sul trasporto degli animali (modificato da Petracci, 2013).

Direttive (D) e Regolamenti Europei (R)	
Trasporto internazionale degli animali	D 77/489/CEE
Trasporto internazionale degli animali	D 81/389/CEE
Protezione degli animali durante il trasporto	D 90/452/CEE
Protezione degli animali durante il trasporto	D 91/426/CEE
Protezione degli animali durante il trasporto	D 91/628/CE
Protezione degli animali durante il trasporto	D 93/119/CE
Protezione degli animali durante il trasporto	D 95/29/CE
Punti di sosta durante trasporti di durata elevata	R 97/1255
Protezione degli animali durante il trasporto	R 98/411
Protezione degli animali durante il trasporto	D 99/575/CE
Protezione degli animali durante il trasporto	R 2005/1
Report Scientifici dell’ Unione Europea	
Trasporto di animali di interesse zootecnico	VI/3404/92-EN
Standard microclima per i veicoli adibiti a trasporto animale	SANCO/B3/AW/R13/1999
Standard microclima per i veicoli adibiti a trasporto animale	EFSA-Q-2003-085 del 20/10/04
The welfare of animals during transport	EFSA-Q-2003-094 del 30/03/04
The welfare of animals during transport	EFSA-Q-2010-00053 del 02/12/10

Tra i documenti più recenti troviamo il Regolamento (CE) 1/2005, documento di riferimento allo stato attuale sul quale si basano gli stati europei in materia di protezione degli animali durante il trasporto, e la *Scientific Opinion Concerning the Welfare of Animals during Transport* pubblicato dall’EFSA nel 2011.

Nell’articolo 2 del regolamento 1/2005 viene specificato che con “viaggio” si intende *l’intera operazione di trasporto dal luogo di partenza al luogo di destinazione, comprese le operazioni di scarico, sistemazione e carico che si effettuano in punti intermedi durante il viaggio* e non c’è l’autorizzazione al trasporto di animali in condizioni tali da esporli a lesioni e sofferenze inutili; gli animali dunque devono essere dichiarati idonei al viaggio e non devono presentare lesioni o problemi fisiologici.

Il mezzo di trasporto deve proteggere gli animali dalle intemperie e dalle temperature estreme e assicurare una costante ed appropriata qualità e quantità dell’aria, a seconda delle specie trasportate. Questo ultimo aspetto riferito all’aria è di fondamentale importanza perché una corretta ventilazione deve essere garantita in maniera quanto più possibile omogenea all’interno del mezzo e gli animali devono poter manifestare il loro naturale movimento.

Nelle operazioni di carico, scarico e manipolazione degli animali, è vietato: percuotere o dare calci, comprimerne le parti sensibili del corpo provocando dolore e sofferenze inutili, usare pungoli e strumenti simili, spingere ed ostruire il passaggio degli animali, utilizzare strumenti con scarica elettrica, salvo casi eccezionali riferiti a bovini o suini adulti che rifiutino di spostarsi.

La durata del viaggio nel caso delle specie equina, suina, bovina, ovina e caprina non deve superare le 8 ore, salvo il rispetto di particolari condizioni dettate dal Reg.1/2005 che ne permettono il prolungamento fino al massimo a 24 ore nel caso dei suini ed equidi domestici, con la costante disponibilità di acqua pulita durante il viaggio. Per il pollame, gli uccelli domestici ed i conigli domestici devono essere disponibili acqua e mangime quando la durata del viaggio supera le 12 ore.

In riferimento alla specie cunicola, la normativa non definisce parametri specifici da adottare in merito per esempio alla durata massima del viaggio, alla densità massima degli animali all'interno delle gabbie-trasporto o alle dimensioni di queste ultime, ma presenta alcune raccomandazioni e alcuni consigli a riguardo, che sono frutto di analisi, revisioni e studi condotti sul tema.

Le raccomandazioni sul trasporto dei conigli all'interno del Report dell'EFSA del 2004, confermate successivamente dalla *Scientific Opinion Concerning the Welfare of Animals during Transport* nel 2011, dicono che l'altezza delle gabbie per il trasporto dei conigli, sebbene dipenda dalla razza, dall'età e dalla taglia, non dovrebbe mai essere inferiore ai 35 cm e lo spazio a disposizione di ogni individuo dovrebbe essere di 0,06 m², in modo che gli animali abbiano un'area sufficiente per muoversi, per cambiare la posizione e per regolare le perdite di calore.

La temperatura ottimale per i conigli all'interno del camion si trova in un range compreso tra 10°C e 20°C e, poiché una ventilazione naturale non è sufficiente a garantire sempre tali parametri, viene suggerito di utilizzare in aggiunta un sistema di ventilazione controllato all'interno del veicolo che permetterebbe anche l'allontanamento dei gas tossici prodotti dalle feci ed urine degli animali. Gli studi finora condotti hanno evidenziato che nel caso della specie cunicola la durata massima del viaggio dall'allevamento al macello dovrebbe essere tra le 8 e le 12 ore (EFSA, 2004; EFSA, 2011).

Per quanto riguarda le modalità di macellazione degli animali, gli stati europei fanno riferimento a quanto definito all'interno del regolamento 1099/09, che *disciplina*

l'abbattimento degli animali allevati o detenuti per la produzione di alimenti, lana, pelli, pellicce o altri prodotti (art.1, Reg.1099/09).

Con il termine macellazione si intende qualsiasi processo effettuato intenzionalmente con lo scopo di provocare la morte dell'animale e nella normativa vengono anche prese in considerazione tutte quelle operazioni correlate che riguardano il maneggiamento, la stabulazione, l'immobilizzazione, lo stordimento ed il dissanguamento degli animali che hanno luogo all'interno del macello, o comunque nel contesto dell'abbattimento.

In ognuna di queste fasi, come anche in quelle relative all'allevamento e al trasporto, devono essere risparmiati agli animali dolori, ansia o sofferenze e prima della morte è assolutamente necessario stordire gli animali mediante tecniche specifiche in base alla specie, volte a provocare la perdita di coscienza e di sensibilità.

Sia l'abbattimento che le varie operazioni correlate, devono essere condotte da personale competente e preparato, in possesso di un certificato di idoneità allo svolgimento di tali interventi, come anche il responsabile della tutela del benessere animale, designato dagli operatori del macello.

Negli allegati del regolamento sono inoltre specificate le modalità di stordimento e le relative caratteristiche, associate anche alle specie alle quali possono essere applicate.

Grazie alla pubblicazione da parte del Ministero della Salute delle Linee Guida sull'applicazione del Reg. 1099/09, è stato possibile dare attuazione alle direttive generali presenti nel regolamento per le differenti categorie di animali in maniera puntuale per ogni specie animale destinata a macellazione.

Per lo specifico settore cunicolo, nel "Manuale di guida di buone pratiche di macellazione per la specie cunicola", elaborato dal Ministero della Salute in collaborazione con il CReNBA (Centro di Referenza Nazionale per il Benessere Animale) (2014), viene riportato che al loro arrivo i conigli devono essere scaricati nel più breve tempo possibile e l'OSA (Operatore del Settore Alimentare) ha il compito di indicare come i conigli vengono gestiti nell'area di sosta ed in particolare in che modo vengono gestite le lunghe soste ed a quali controlli vengono sottoposti gli animali.

Il metodo di stordimento utilizzato per la specie cunicola è lo stordimento elettrico tramite elettroanestesi applicata limitatamente alla testa. Gli elettrodi vengono applicati, solo se gli animali sono stati immobilizzati e sono sufficientemente tranquilli, tra le orecchie e gli occhi dell'animale. Alcuni parametri relativi allo stordimento dei conigli sono riportati in Tabella 5:

Tabella 5. Paramenti relativi allo stordimento dei conigli (Ministero della Salute, 2014).

Corrente minima	Tensione minima	Tempo minimo di esposizione	Intervallo massimo stordimento – dissanguamento
140 mA	100 V	3 sec	5 sec

Il dispositivo di stordimento deve essere frequentemente calibrato e per ottimizzare il flusso di corrente tutta la superficie degli elettrodi deve essere a contatto con la cute del coniglio che viene preventivamente bagnata.

Prima della giugulazione, l'operatore deve assicurarsi dell'efficacia dello stordimento per evitare che l'animale arrivi alla macellazione in uno stato di coscienza. L'assenza di sensibilità è data da alcuni indicatori fisici come: la perdita immediata della stazione quadrupedale, assenza di respirazione ritmica, assenza di risposta a stimoli dolorosi, assenza di vocalizzazioni, nessun tentativo di sollevare la testa o rialzarsi, testa e corpo dell'animale tendono dritti dalla catena (Ministero della Salute, 2014).

Benessere del coniglio in allevamento

Negli ultimi anni il crescente interesse sul benessere degli animali, sia da parte dei consumatori, interessati alle caratteristiche degli allevamenti e alla qualità dei prodotti, sia da parte degli allevatori interessati soprattutto alle prestazioni produttive ad esso correlate, ha portato alla continua ricerca da parte di studiosi e ricercatori di modalità migliorative nelle fasi di allevamento, trasporto e macellazione, che possano migliorare non solo lo stato psicologico degli animali, ma anche la loro produttività e la qualità dei prodotti finali.

Già nel 1965 il comitato governativo britannico Brambell Committee elaborava un report (Brambell Report) che prendeva in considerazione la relazione tra allevamento, comportamento degli animali e benessere, definendo quest'ultimo come “caratteristica sia fisica che mentale dell'animale”. Per la prima volta si specificava che la valutazione del benessere doveva essere accompagnata da risultati scientifici e, per questo, obiettivi ed oggettivi (Ferrante, 2009; Carenzi e Verga, 2009; Giovine e coll., 2013).

Negli anni successivi sono state date diverse definizioni di “benessere”: Hughes (1965) dice che “il benessere è una condizione di perfetta integrità fisica e mentale, nella quale l'animale è in completa armonia con l'ambiente che lo circonda”; nel 1986, Broom scrive che la condizione di “benessere di un organismo è misurabile in relazione al suo sforzo di adattamento all'ambiente”. In altre parole, se l'animale riesce ad adattarsi velocemente

all'ambiente in cui si trova, significa che è in uno stato di benessere; al contrario, se gli sforzi di adattamento sono numerosi e richiedono dispendio di molte energie, non si trova in una condizione di benessere (Trocino e Xiccato, 2006).

La definizione più comprensibile e facilmente apprezzabile è quella delle “cinque libertà” pubblicate per la prima volta nel Brambell Report nel 1965, ripresa inizialmente dal Farm Animal Welfare Council nel 1991 e successivamente dal Farm Animal Welfare Committee nel 2011 secondo cui gli animali devono essere protetti e liberi 1) dalla fame e dalla sete; 2) dal disagio; 3) dal dolore, dalle ferite e dalle malattie; 4) dalla paura e dallo stress; 5) devono essere liberi di esprimere un repertorio comportamentale normale per la loro specie (Trocino e Xiccato, 2000; Ferrante, 2009; Farm Animal Welfare Committee, 2011). Il benessere può dunque essere misurato sulla base dello studio del comportamento che rivela come l'animale reagisce in situazioni di paura, dolore, libertà ed è determinante per comprendere la funzione di alcuni comportamenti ed il loro significato.

Secondo Mac Farland (1981) il coniglio ha un proprio repertorio comportamentale articolato in alimentazione (nelle ore crepuscolari e notturne per lo più); attività di comfort (stiramento e stretching); attività sociali (attività agonistiche e sessuali, grooming); attività esplorative (fiutare e marcare l'ambiente); locomozione (Giovine e coll., 2013).

È possibile fornire una valutazione scientifica delle condizioni di benessere degli animali allevati attraverso degli indicatori, diretti ed indiretti:

- ❖ **DIRETTI**: registrano e misurano le reazioni degli animali nell'ambiente in cui si trovano e possono essere:
 - **Etologici**: viene osservato il repertorio comportamentale per valutare eventuali anomalie (etogramma e test comportamentali quali immobilità tonica, open-field test e test di preferenza) (Trocino e Xiccato, 2006; Verga e coll., 2006; Ferrante, 2009; Luzi e coll., 2009);
 - **Fisiologici**: eventi stressanti provocano l'alterazione dell'equilibrio omeostatico dell'organismo che può essere misurata su matrici diverse come plasma, fegato, muscolo, pelo, mediante indicatori primari (glucocorticoidi e catecolamine) e indicatori secondari di stress (glucosio, lattato, ematocrito, proteine totali, heat shock proteins, pressione sanguigna, temperatura corporea) (De la Fuente e coll., 2007; Liste e coll., 2008; Buijs e coll., 2011; Bertotto e coll., 2016);
 - **Patologici**: condizioni ambientali non idonee possono portare ad uno stress cronico ed indurre patologie causate da una compromissione della risposta immunitaria, fino a

morte dell'animale (Maertens e Van Herck, 2000; Petracci e coll., 2008; Cesari e coll., 2009; Ferrante, 2009; Petracci e coll., 2010);

- Produttivi: negli allevamenti intensivi gli animali sottoposti a scarse condizioni di benessere sono meno produttivi, con diminuzione dell'ingestione alimentare e dell'indice di conversione alimentare e con ripercussioni negative anche sulla qualità della carne (Jiezierki e Koneka, 1996; Trocino e coll., 2003; Villalobos e coll., 2008; Petracci e coll., 2008).
- ❖ **INDIRETTI**: rilevano e registrano le caratteristiche dell'ambiente in cui gli animali sono allevati, rivelando le cause di eventuali problemi di benessere (Ferrante, 2009):
 - Strutture e sistemi d'allevamento (tipo di stabulazione, qualità della lettiera, aereazione, ventilazione, sistemi di alimentazione);
 - Gestione (alimentazione, cure individuali, manutenzione degli impianti);
 - Relazioni uomo-animale (manipolazioni, familiarità con il personale).

Per condurre un allevamento che tenga il più possibile in considerazione gli aspetti del benessere cunicolo è necessario valutare in maniera congiunta gli indicatori sopra elencati, rispettando quanto definito dal Dgl. 146/01 relativo alla protezione degli animali negli allevamenti, cercando di applicare le raccomandazioni del Report Scientifico dell'EFSA (2005) sull'impatto degli attuali metodi di allevamento sul benessere del coniglio e seguendo i regolamenti 1/2005 sulla protezione degli animali durante il trasporto e 1099/09 sulla protezione degli animali durante l'abbattimento.

Qualità della carne di coniglio e fattori in grado di modificarla

Trasformazione del muscolo in carne e qualità della carne di coniglio

La qualità della carne è un aspetto molto importante che riassume una serie di caratteristiche proprie dell'animale di provenienza e del sistema di allevamento. La qualità può essere *organolettica*, se descrive le caratteristiche sensoriali dell'alimento, *nutrizionale*, se ne definisce la composizione chimica e il contenuto di principi nutritivi, *tecnologica*, qualora vengano individuate le proprietà fisiche della carne ed infine *igienico-sanitaria* quando definisce la sicurezza alimentare. L'intera filiera produttiva con le sue diverse fasi influisce sulla qualità finale del prodotto che viene condizionato dalla genetica, dalle tecniche di allevamento, dalla gestione degli animali, dal trasporto e dalla macellazione insieme alle fasi che la precedono, dalla conservazione e/o trasformazione ed infine dalla commercializzazione del prodotto destinato al consumatore.

Prima ancora di approfondire le relazioni tra la qualità della carne e la varie fasi produttive, è opportuno descrivere i principali processi che trasformano il tessuto muscolare in carne dalla morte dell'animale fino alla distribuzione del prodotto.

Negli attimi immediatamente successivi alla morte dell'animale (causata dalla iugulazione), la privazione del flusso sanguigno ai comparti dell'organismo e la conseguente ipossia determinano a livello muscolare una riduzione di glicogeno ed un accumulo di acido lattico, con conseguente abbassamento del pH. Se al momento della macellazione i muscoli hanno pH neutro o tendenzialmente alcalino, i valori misurati dopo 24 h (pH ultimo o terminale) sono in genere compresi tra 5,5, e 5,9. Insieme alla caduta del pH si verificano una denaturazione delle proteine sarcoplasmatiche ed un progressivo avvicinamento delle proteine miofibrillari al loro punto isoelettrico, che determinano delle modificazioni della struttura proteica e la comparsa del liquido di gocciolamento che tende ad accumularsi soprattutto nelle fasi di conservazione (Cavani e Petracci, 2008).

Parallelamente alla discesa del pH, si realizza la completa rigidità del muscolo definita *rigor mortis*, data dalla contrazione definitiva ed irreversibile delle fibre muscolari per la formazione di catene rigide di acto-miosina e in mancanza di ATP.

Con la risoluzione del *rigor mortis* ha inizio la fase di intenerimento o frollatura, che determina la maturazione della carne modificando la struttura proteica del muscolo rendendolo tenero e pronto alla commercializzazione grazie all'azione di una serie di enzimi proteolitici endogeni. Tali enzimi sono le calpaine, che agiscono a pH neutro e sono Ca-dipendenti necessitando del calcio per la loro attivazione, e le cathepsine, il cui pH ottimale è acido e varia tra 4 e 6.

La carne dunque è il risultato della trasformazione che i muscoli subiscono dopo la morte dell'animale e che è caratterizzata sostanzialmente da due principali processi biochimici: l'instaurarsi del *rigor mortis* e la successiva maturazione (Hulot e Ouhayoun, 1999).

La carne cunicola ha caratteristiche nutrizionali favorevoli per l'uomo tra le quali l'assenza di fattori anti nutrizionali ed allergenici e l'elevato tenore in PUFA (acidi grassi polinsaturi) presenti all'interno dei fosfolipidi (Cavani e Petracci, 2008; Cavani e coll, 2010; Peiretti, 2012).

Nel complesso il contenuto di lipidi (1-2%) e colesterolo (45-55 mg/100g) della carne cunicola è molto basso, mentre il contenuto proteico è importante (20,8-23,3%) e caratterizzato da un elevato valore biologico. La carne di coniglio, che rientra nella categoria delle carni bianche insieme a quelle avicole, è considerata tra le più proteiche delle carni

provenienti dalle specie di interesse zootecnico, superata solamente dal petto di pollo (fino al 25%) e dal fagiano (fino al 27%) (Dalle Zotte; 2002; Cavani e Petracci, 2008). Gli aminoacidi più rappresentati sono lisina e treonina, mentre il triptofano è aminoacido più limitante (Combes, 2007).

Per quanto concerne macro e micro-minerali, la carne cunicola presenta contenuti elevati di fosforo, potassio e magnesio, mentre è carente di calcio, sodio e ferro.

Tecnica di allevamento e qualità della carne

Tra i fattori in grado di condizionare le caratteristiche quanti-qualitative della carne si possono individuare la tipologia genetica, l'età, il peso di macellazione e l'alimentazione. Tuttavia, anche altri fattori, maggiormente legati agli interventi da parte dell'uomo, possono influire sulla qualità del prodotto finale, come la tipologia di allevamento, la modalità di gestione dei conigli, la densità degli animali e le condizioni microclimatiche dei ricoveri.

Sia i conigli selvatici che quelli domestici hanno grandi capacità di adattarsi a nuove condizioni ambientali e tale premessa ha sicuramente facilitato lo sviluppo dell'allevamento di questa specie che nel gruppo, essendo degli animali gregari, durante la convivenza creano delle gerarchie che possono portare a manifestazioni aggressive. Negli allevamenti italiani tali comportamenti difficilmente si verificano poiché i conigli sono stabulati per lo più in gabbie bicellulari (Figura 3). A livello europeo sono più diffusi sistemi di allevamento in gruppo in cui i conigli si trovano a convivere all'interno di piccoli o grandi recinti (*parchetti o pens*) (Figura 4) con un numero variabile di conigli (7-9).



Figura 3. Gabbie bicellulari



Figura 4. Gabbie polifunzionali

Generalmente la carcassa e la carne degli animali provenienti da queste due diverse tipologie stabulative presentano caratteristiche differenti e tali differenze sono da attribuire per lo più alla densità e alla numerosità del gruppo, o ad altre caratteristiche del sistema di allevamento. Dagli studi condotti è emerso che il più delle volte le prestazioni di crescita dei conigli allevati in gabbia sono migliori rispetto a quelle dei conigli cresciuti in gruppi numerosi all'interno dei recinti. Alla fine del ciclo produttivo, gli animali allevati in gabbia mostrano un'ingestione alimentare ed un accrescimento giornaliero superiori rispetto a quelli cresciuti in recinti di dimensioni e caratteristiche variabili (Maertens e Van Herck, 2000; Dal Bosco e coll., 2002; Lazzaroni e coll., 2009; Paci e coll., 2013; Matics e coll., 2014), avendo di conseguenza anche un peso finale superiore (Metzger e coll., 2003; Dalle Zotte e coll., 2009; Lazzaroni e coll., 2009; Combes e coll., 2010; Paci e coll., 2013; Matics e coll., 2014). Di conseguenza anche le rese di macellazione (Dal Bosco e coll., 2002) e i pesi delle carcasse sono superiori nei conigli allevati in gabbie rispetto a quelli allevati in recinti (Combes e coll., 2010). La carcassa e la carne dei conigli allevati nei parchetti, inoltre, hanno solitamente una percentuale di grasso inferiore (Dal Bosco e coll., 2002; Combes e coll., 2010; Matics e coll., 2014), e talvolta un minore contenuto proteico (Metzger e coll., 2003). Per quanto riguarda il colore del muscolo, Dal Bosco e coll. (2002) e Dalle Zotte e coll. (2009), sono concordi nell'affermare che nei conigli allevati in recinti la carne risulta essere più pallida e luminosa e con pH basso, mentre Combes e coll. (2010) hanno trovato una colorazione più rossa nella carne dei conigli allevati in recinto rispetto ai conigli allevati in gabbia.

In generale la densità non è un fattore che influisce sulla qualità finale della carne (Dal Bosco e coll., 2002; Trocino e coll., 2004; Trocino e coll., 2008; Trocino e coll., 2015), ma piuttosto influisce negativamente sull'ingestione alimentare, sulla crescita giornaliera e sul peso vivo finale (Trocino e coll., 2004; Villalobos e coll., 2008; Trocino e coll., 2015). D'altra parte Paci e coll., (2013) hanno osservato, in uno studio condotto su conigli allevati all'aperto in cui sono state confrontate tre diverse densità di allevamento (2,5 conigli/m², 5 conigli/m², 16 conigli/m²), che alle densità minori i muscoli *biceps femoris* e *longissimus lumborum* presentavano rispettivamente una minor lucentezza e un più alto indice del rosso (a*) rispetto ai muscoli dei conigli allevati alle densità maggiori.

Tutti i fattori di allevamento in grado di modificare le prestazioni produttive e la condizione generale di benessere degli animali possono avere un effetto sulla qualità della carne dei conigli. Fra questi, ad esempio, la presenza di lettiera in paglia può peggiorare le prestazioni produttive (Dal Bosco e coll., 2002; Trocino e coll., 2008; Matics e coll., 2014) e

influenzare negativamente la resa di macellazione e la percentuale di grasso separabile oltre che la colorazione della carne (Trocino e coll., 2008).

Trasporto pre-macellazione e qualità della carne

Almeno una volta nella vita tutti gli animali mantenuti nelle aziende zootecniche vengono sottoposti alla fase di trasporto. Generalmente i conigli da carne vengono trasportati una sola volta, alla fine del ciclo produttivo, quando, avendo raggiunto il peso ideale, vengono condotti al macello. Il trasporto non comprende solamente il viaggio verso il macello, ma anche le fasi ad esso correlate, quali carico (preceduto da cattura) e scarico al macello; tutte queste operazioni hanno un effetto sulla condizione generale dell'animale (psico-fisica) e concorrono a modificare la qualità della carne dei conigli come degli altri animali di interesse zootecnico (Petracci e coll., 2009).

Gli eventi stressanti cui gli animali vengono sottoposti sono “fisici” e “psicologici”. Tra i primi vengono inclusi il digiuno idrico ed alimentare, le variazioni di temperatura, umidità relativa, rumorosità ed intensità luminosa, gli spostamenti che subiscono nelle fasi di carico/scarico, il continuo mantenimento della stazione quadrupedale durante il viaggio e le nuove situazioni sociali (interazioni aggressive, fuga, monta, ecc); gli eventi psicologici, invece, riguardano la manipolazione, la costrizione, l'esposizione a nuovi ambienti ed individui (Costa, 2009).

Prima del trasporto i conigli vengono catturati e caricati sul camion all'interno delle gabbie-trasporto; il carico viene di solito effettuato direttamente in allevamento posizionando le gabbie-trasporto vicino alle gabbie da ingrasso, oppure può essere realizzato spostando i conigli all'esterno in gabbie da carico e caricandoli quindi sulle gabbie-trasporto già pronte sul mezzo (Cavani e coll, 2006; Petracci, 2013). Le operazioni di carico devono essere condotte con cura per ridurre mortalità e problemi sulle carcasse, come emorragie, lividi e fratture ossee. Le aree maggiormente esposte a contusioni sono gli arti posteriori, i muscoli toracici e la parte interna della regione lombare (Verga e coll., 2009).

Le dimensioni delle gabbie possono variare leggermente, ma devono comunque essere sufficientemente alte per garantire una corretta postura durante il viaggio. Le misure standard europee sono: 100-110 x 50-60 x 22-30 cm (lunghezza x larghezza x altezza). Particolare attenzione viene data alla densità all'interno delle gabbie-trasporto e allo spazio concesso a ciascun animale che in condizioni standard varia fra 10 e 16 animali/gabbia in funzione del peso e dell'età di macellazione, oltre che della stagione (Petracci e coll., 2009).

Le condizioni di trasporto che possono influenzare la condizione generale di benessere dei conigli, la resa della carcassa e la qualità finale della carne sono la durata del trasporto (Dal Bosco e coll., 1997; Trocino e coll., 2003; Petracci e coll., 2008; Petracci e coll., 2009; Petracci e coll., 2010; Bertotto e coll., 2016) e dell'attesa pre-macellazione (Petracci e coll., 2008; Petracci e coll., 2009; Petracci e coll., 2010), la temperatura (Marìa e coll., 2006; Liste e coll., 2008; Petracci e coll., 2008; Petracci e coll., 2010), la posizione delle gabbie sul mezzo (Liste e coll., 2008), oltre che la densità all'interno delle gabbie di trasporto. Sicuramente il viaggio e tutte le operazioni connesse sono causa di stress nei conigli come testimoniato dalle variazioni dei livelli degli indicatori dello stress come cortisolo, corticosterone, creatinin-kinasi e HSP70, che generalmente aumentano dopo il trasporto (Canali e coll., 2000; Liste e coll., 2008; Bertotto e coll., 2016),

La durata del viaggio è il fattore che più di tutti è stato considerato negli studi e che più incide sulla qualità della carne seppure con risultati non sempre concordi. In alcune pubblicazioni è emerso che il pH della carne aumenta all'aumentare del tempo di viaggio (Dal Bosco e coll., 1997; Petracci e coll., 2009), mentre in altre non sono state individuate differenze in funzione della durata del trasporto (Trocino e coll., 2003; Marìa e coll., 2006; Liste e coll., 2008). Trasporti lunghi aumentano solitamente le perdite di peso vivo (Trocino e coll., 2003; Petracci e coll., 2008) ed hanno un effetto negativo sulla resa di macellazione (Petracci e coll., 2008; Trocino e coll., 2003). Le carni risultano essere più rosse e scure e meno luminose (Dal Bosco e coll., 1997; Trocino e coll., 2003; Petracci e coll., 2009), con minori perdite di cottura, ma maggiori perdite di gocciolamento (Dal Bosco e coll., 1997; Petracci e coll., 2009). La durata del viaggio e le elevate temperature durante il trasporto possono aumentare le contusioni sulle carcasse come anche la mortalità; quest'ultima aumenta per viaggi di durata superiore ai 220 minuti (Petracci e coll., 2008; Petracci e coll., 2010). In estate, la resa della carcassa è maggiore e le carni risultano più luminose, in inverno il pH delle carni è maggiore e aumenta l'indice del rosso (Marìa e coll., 2006; Petracci e coll., 2008).

L'analisi dell'effetto dell'attesa pre-macellazione ha messo in evidenza un aumento di mortalità e resa di macellazione in alcuni casi all'aumentare della stessa (Petracci e coll. 2008; Petracci e coll., 2010) così come un aumento delle perdite di cottura e della forza di taglio (Petracci e coll., 2009). I risultati tuttavia possono essere diversi in funzione dell'interazione dell'attesa pre-macellazione con la stagionalità, i tempi di viaggio, metodologie di carico e scarico, genetica ed età degli animali differenti.

Una volta sul mezzo i conigli si trovano nelle gabbie collocate in diverse posizioni: in alto, al centro, in basso, esternamente o internamente. Il loro posizionamento sul camion potrebbe anch'esso influire sullo stato degli animali e quindi provocare effetti tali da modificare la composizione della carne. Liste e coll. (2008) hanno evidenziato che i conigli nelle gabbie al centro e in basso hanno valori maggiori a livello ematico di glucosio, cortisolo e creatininkinasi rispetto a quelli delle gabbie in alto.

Lambertini e coll. (2006) hanno anche valutato l'effetto della densità di trasporto (15 conigli/gabbia e 75,7 kg/m² vs 10 conigli/gabbia e 49 kg/m²) sulla qualità della carcassa e della carne in termini di perdite di peso vivo, pH e colore del *longissimus dorsi*, perdite di sgocciolamento e perdite di cottura.

Infine, da uno studio condotto in Spagna in condizioni di campo è emerso che i punti critici durante le operazioni di trasporto dei conigli sono il tempo di attesa in allevamento prima del carico sul camion, le modalità di carico, la ventilazione e la temperatura durante il viaggio, le interruzioni durante il carico, lo scarico al macello, la durata dell'attesa prima della macellazione e le condizioni ambientali durante l'attesa, e il tempo che intercorre tra lo stordimento e il dissanguamento. Presso i macelli, le aree di sosta devono essere coperte e protette dalle intemperie per garantire il benessere e evitare cambiamenti bruschi della temperatura in estate e in inverno controllando le condizioni climatiche ed ambientali, garantendo una zona di termo-neutralità per i conigli (Buil e coll., 2004).

Macellazione e qualità della carne

La legislazione europea prevede lo stordimento dei conigli con elettroanestrosi mediante due elettrodi applicati alla testa dell'animale, seguito da macellazione con taglio delle giugulari effettuato da personale preparato ed autorizzato. È molto importante per il benessere dell'animale, come è stato dimostrato dallo studio di Canali e coll. (2000), e per il valore qualitativo delle carni, rispettare le definizioni date dal reg. 1099/09, poiché intensità di corrente, frequenza e durata dell'esposizione possono modificare il processo di acidificazione post-mortem del muscolo e di conseguenza le caratteristiche tecnologiche della carne (Cavani e Petracci, 2008).

In condizioni commerciali, Rota Nodari e coll. (2009) hanno valutato la correttezza delle operazioni di macellazione registrando, su un totale di 1020 conigli, un'applicazione scorretta degli elettrodi nel 10,8% dei casi e la ripetizione dell'intervento di stordimento elettrico nel 10,9%. La successiva fase del taglio delle giugulari è avvenuta secondo la normale prassi

sebbene tre conigli abbiano vocalizzato e due di loro abbiano avuto degli spasmi, probabilmente dovuti ad un posizionamento non adeguato degli elettrodi. Gli esiti negativi dello stordimento sono stati attribuiti al posizionamento scorretto degli elettrodi ed alla durata dello stordimento ($1,31 \pm 0,29$). L'analisi dei dati raccolti su conigli storditi con elettroanestesi a diversi amperaggi e voltaggi per 2 e 4 secondi (80 V, 8 A per 2 sec; 80 V, 2,5 A per 2 sec; 45 V, 8 A per 4 sec; 45 V, 2,5 A per 4 sec) rispetto alla macellazione mediante dislocazione cervicale non ha evidenziato differenze significative di pH, colore, umidità, perdite di sgocciolamento e di cottura e forza di taglio della carne di coniglio (Dal Bosco e coll., 1997).

Marìa e coll. (2001) hanno misurato gli effetti delle condizioni di stordimento elettrico sulle risposte dei conigli e sul pH della carne, considerando cinque diverse intensità (49 V, 5.6 ms, 179 Hz; 130 V, 6.2 ms, 161 Hz; 19 V, 0.6 ms, 1667 Hz; 130 V, 0.6 ms, 1667 Hz; 19 V, 6.2 ms, 161 Hz) per la durata di 3 s. Le fasi di recupero "post-scarica elettrica" sono state suddivise in fase tonica, fase clonica, riflesso corneale, ripresa del ritmo respiratorio, risposta ad uno stimolo doloroso e ripresa della postura sugli arti posteriori. Diversi riscontri sono emersi in funzione della tipologia di stordimento, come per esempio un ritardo dell'inizio della fase tonica (19 V, 6.2 ms, 161 Hz), un prolungamento sia dell'inizio che della fine della fase clonica (130 V, 6.2 ms, 161 Hz), la riapparso del riflesso corneale anticipata (19 V, 0.6 ms, 1667 Hz e 19 V, 6.2 ms, 161 Hz) rispetto agli altri metodi ed un ritorno del ritmo respiratorio più veloce (49 V, 5.6 ms, 179 Hz e 130 V, 6.2 ms, 161 Hz). In alcuni casi la durata della ripresa della postura sugli arti posteriori è stata significativamente ritardata (130 V, 6.2 ms, 161 Hz), come anche la risposta agli stimoli dolorosi (19 V, 6.2 ms, 161 Hz). Non ci sono state invece differenze significative sul pH della carne in base alle diverse intensità di stordimento utilizzate (Marìa e coll., 2001).

Altri punti critici presso il macello sono la rimozione della pelliccia e l'eviscerazione, poiché si può verificare contaminazione microbica della carcassa e della carne; il processo di refrigerazione, che se precoce con un abbassamento repentino della temperatura potrebbe portare ad una perdita di tenerezza delle carni; l'intensità di amperaggio nella fase di stordimento, che se elevata facilita la comparsa di petecchie emorragiche con una conseguente svalutazione economica della carcassa e della carne (Cavani e Petracci, 2008).

Obiettivi

La crescente attenzione rivolta al benessere degli animali in ambito zootecnico e alla qualità dei loro prodotti finali ha promosso lo studio degli effetti che eventi stressanti come la stabulazione, il trasporto e la macellazione provocano sulla condizione generale di benessere degli animali e sulla qualità dei prodotti finali.

Nel caso della specie cunicola, nonostante la elevata capacità di adattamento a nuove condizioni ambientali e climatiche, possono insorgere problematiche fisiologiche legate a errata gestione e conduzione dell'allevamento, con riferimento a densità di allevamento, gestione da parte del personale e condizioni microclimatiche. Anche le operazioni di trasporto dei conigli devono essere condotte nel rispetto della normativa e delle caratteristiche della specie, piuttosto timorosa, facilmente soggetta a ferite ad arti e alla legione lombare con ripercussioni negative sulla qualità della carcassa. Una volta giunti al macello, i conigli vengono scaricati e solitamente sostano all'interno delle gabbie-trasporto in apposite aree prima della macellazione.

Gli studi condotti hanno evidenziato una certa condizione di stress per i conigli in funzione delle modalità di trasporto, che può alterare l'equilibrio omeostatico dell'organismo e avere ripercussioni negative sulla qualità della carcassa e della carne.

Fatta questa premessa, la ricerca svolta nell'ambito della presente tesi di Laurea ha avuto l'obiettivo di verificare l'effetto della durata del trasporto (1 h vs 3 h), dell'attesa pre-macellazione (30 min vs 3 h), della collocazione in altezza nei diversi moduli delle gabbie di trasporto (superiore vs inferiore) e della posizione dei moduli (esterna vs interna) sul camion in conigli in accrescimento. L'effetto dei fattori indicati è stato valutato sulla condizione generale di benessere mediante indicatori primari e secondari di stress, oltre che sulla qualità della carcassa e della carne di conigli in accrescimento provenienti da un allevamento commerciale.

Materiali e metodi

Animali e disegno sperimentale

La prova è stata svolta utilizzando 320 conigli provenienti da un carico commerciale effettuato presso un allevamento privato (localizzato in provincia di Padova) e corrispondente a 2690 conigli, ibridi commerciali, dell'età di 84 giorni e con un peso medio di partenza pari a 3,01 kg. L'allevamento era condotto con una ciclizzazione settimanale e i conigli erano allevati in gabbie bicellulari. Gli animali sono stati trasportati presso un macello commerciale e lì macellati secondo le procedure standard del macello.

Il carico per la macellazione è stato effettuato nel mese di novembre 2016 e gli animali sono stati trasportati in condizioni relativamente stabili con temperatura esterna variabile da un minimo di 10,1°C a un massimo di 13,4°C, e umidità relativa dal 74,7% all'89,7%. In allevamento, tutti i conigli sono stati caricati dal personale dell'allevamento in gabbie da trasporto standard in plastica (50 cm x 100 cm x 30 cm) con 12 conigli per gabbia (Figura 5).



Figura 5. Camion all'arrivo al macello

Al momento del carico, 32 gabbie sono state individualmente identificate e assegnate a quattro gruppi sperimentali secondo un disegno bifattoriale che prevedeva due tempi di

trasporto (breve, 1 h vs lungo, 3 h) e due tempi di attesa pre-macellazione dopo lo scarico (breve, 30 min vs lungo, 3 h) così come di seguito schematizzato:

- Trasporto Breve, attesa Breve (TBB) (8 gabbie da trasporto);
- Trasporto Breve, attesa Lunga (TBL) (8 gabbie da trasporto);
- Trasporto Lungo, attesa Breve (TLB) (8 gabbie da trasporto);
- Trasporto Lungo, attesa Lunga (TLL) (8 gabbie da trasporto).

Per realizzare i due tempi di trasporto, le gabbie assegnate al gruppo “Trasporto Breve” sono state posizionate in coda al camion e scaricate subito al loro arrivo al macello dopo circa un’ora di viaggio. Le gabbie assegnate al gruppo “Trasporto Lungo”, posizionate in testa al carico, sono rimaste sul camion e sono state sottoposte a un nuovo viaggio verso l’allevamento in modo da raggiungere una durata complessiva del trasporto pari a 3 h (Figura 6).

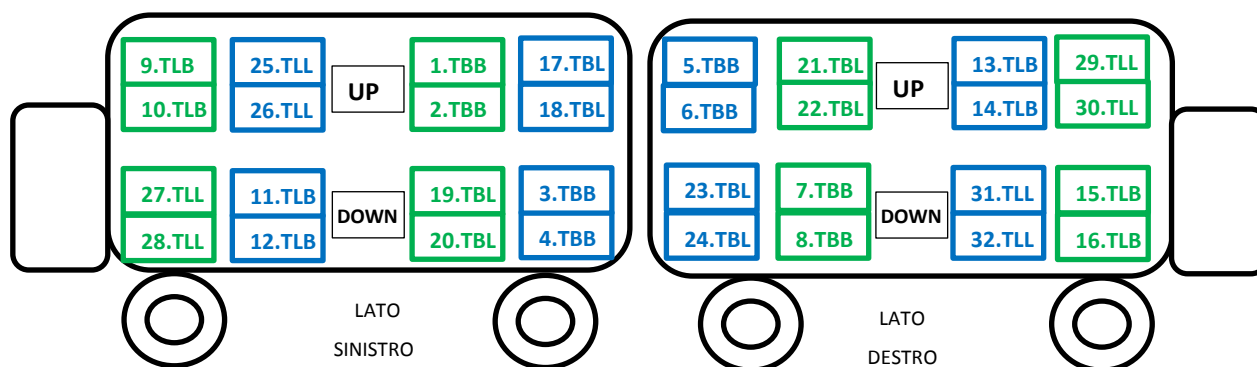


Figura 6. Blocco posteriore di gabbie (1-4 e 17-20 sul lato sinistro; 5-8 e 21-24 sul lato destro) facenti parte del gruppo Trasporto Breve (TB); blocco anteriore di gabbie (9-12 e 25-28 sul lato sinistro; 13-16 e 29-32 sul lato destro) facenti parte del gruppo Trasporto Lungo (TL). Le gabbie in posizione esterna sono contrassegnate dal colore verde, mentre le gabbie in posizione interna sono contrassegnate dal colore blu.

Una volta scaricati, gli animali delle gabbie del gruppo TB-attesa breve sono stati subito destinati alla macellazione (circa 30 minuti di attesa), mentre quelli del gruppo TB-attesa lunga sono stati scaricati e sono rimasti nell’area sosta pre-macellazione per circa 3 ore. La stessa procedura è stata seguita per gli animali del gruppo TL.

Inoltre, entro gruppo sperimentale, è stata controllata la posizione delle gabbie sul camion di trasporto, distinguendo fra le gabbie collocate alla base della colonna di gabbie (posizione inferiore) e quelle in cima (posizione superiore) oltre che fra quelle collocate in posizione interna e protetta dagli agenti esterni per tutta la durata del viaggio (posizione interna) o in

posizione esposta (posizione esterna) per tutta la durata del viaggio o per parte di esso (Figura 6).

Rilievi pre-macellazione

Il camion da trasporto è stato equipaggiato con cinque data logger per il rilievo in continuo durante il trasporto di temperatura (Testo 184 T3) e umidità relativa (Testo 184 H1), posizionati nelle gabbie da trasporto e in diverse posizioni dello stesso camion come da Figura 7. Un ulteriore data logger era posizionato nella cabina del guidatore.

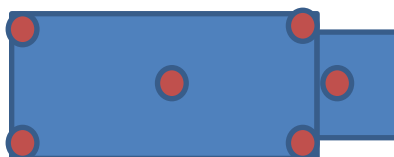


Figura 7. Datalogger sul camion, indicati con i punti rossi.

Tutte le gabbie caricate in allevamento sono state pesate in partenza e per bancali. Al macello, è stato misurato il peso complessivo dei bancali con le gabbie scaricate dopo il trasporto breve e dopo il trasporto lungo. Entrambi i pesi sono stati quindi corretti per il peso delle gabbie di trasporto.

Prima della macellazione, per ogni gabbia di trasporto, tutti i conigli (12) sono stati individualmente pesati e, tra questi, dieci sono stati individualmente identificati in modo da essere seguiti in tutte le operazioni. Di conseguenza, sono stati controllati 320 conigli (10 per 32 gabbie di trasporto; 80 per 4 gruppi sperimentali).

Macellazione e rilievi alla macellazione

Gli animali sono stati storditi mediante elettroanestesi alla testa ed appesi al gancio della catena di macellazione secondo le procedure standard del macello. Ogni coniglio è stato identificato numericamente tramite una targhetta posta sul gancio. Dopo lo stordimento, gli animali sono stati sottoposti a incisione giugulare seguita da scuoiatura, incisione dell'addome e separazione dell'apparato digerente pieno e della vescica, e lavaggio della carcassa. Le carcasse sono state quindi staccate dalla catena di macellazione per essere attaccate alla catena di refrigerazione, sono entrate nel tunnel di raffreddamento (2°C) e vi sono rimaste per circa 2,5 ore. All'uscita dal tunnel, le carcasse sono state recuperate e pesate individualmente. Metà delle carcasse (160) omogeneamente distribuite per gruppo sperimentale sono state confezionate individualmente in sacchetti di plastica e trasportate presso i laboratori

dell'Università degli Studi di Padova (DAFNAE) per le successive operazioni di dissezione e valutazione della qualità della carcassa e della carne.

Qualità della carcassa e qualità della carne

Le 160 carcasse sono state pesate a 24 ore dalla macellazione e sui muscoli *longissimus lumborum* e *biceps femoris* della carcassa è stato rilevato il colore attraverso l'utilizzo del colorimetro Minolta Spectrophotometer CM-508 C (Minolta, Milano) (Figura 8) secondo il metodo CIE L*a*b* (Rennere, 1982), che individua le tre coordinate cromatiche per la misura della luminosità (L*), dell'indice del rosso (a*) e dell'indice del giallo (b*). Sugli stessi muscoli è stato misurato il pH mediante pH-metro (Figura 9) dotato di elettrodo specifico per la penetrazione nella carne e per il contatto con il tessuto muscolare (Basic 20, Crison Instruments Sa, Carpi, Italia) e di sonda termica (Xiccato e coll., 1994).



Figura 8. Misura del colore su *longissimus lumborum* e *biceps femoris* con colorimetro



Figura 9. Misura del pH su *longissimus lumborum* e *biceps femoris* con pHmetro

In seguito, da ogni carcassa, sono stati rimossi e pesati separatamente testa, fegato e timo, trachea, cuore polmoni e reni (TTCP+reni), ottenendo così il peso della “carcassa di riferimento” (Blasco e Ouhayoun, 1993), dalla quale poi è stato separato il grasso (perirenale, periscapolare e altro grasso separabile). La carcassa di riferimento è stata sezionata per separare i due arti posteriori destro e sinistro e i due lombi destro e sinistro, che sono stati pesati e conservati singolarmente in sacchetti sottovuoto con il rispettivo numero identificativo (Figura 10 e 11) ad una temperatura di -18°C.



Figura 10. Arto posteriore



Figura 11. Lombo sottovuoto

Gli arti posteriori e i muscoli *l. lumborum* destri, dopo lo scongelamento, sono stati estratti dai sacchetti, asciugati e pesati per determinarne le perdite di scongelamento e successivamente sono stati reinseriti in sacchetti sottovuoto, e cotti a bagnomaria in un bagno termostato (Figura 12) ad una temperatura interna di 80°C, circa 1 ora nel caso dei lombi e circa 2,5 ore nel caso delle cosce.



Figura 12. Bagno termostato a 80°C utilizzato per la cottura della carne.

Dopo la cottura, le cosce sono state estratte e raffreddate; successivamente sono state estratte dai sacchetti, tamponate delicatamente con carta assorbente e lasciate asciugare per circa 1,5 ore, prima di rilevare il peso per determinare le perdite di cottura.

A questo punto da ciascuna coscia è stato rimosso il femore e si è ricavata una porzione centrale in corrispondenza del muscolo *biceps femoris*, che includeva anche altri fasci muscolari, della lunghezza di circa 6 cm, che è stata pesata e sottoposta a misura dello sforzo massimo di taglio con il dinamometro mono-colonna (modello: LS5, Lloyd Instruments Ltd, Bognor Regis, UK) utilizzando il dispositivo Allo-Kramer a 10 lame dello spessore di 2 mm con distanza tra le lame di 5 mm, cella di carico di 500 kg e velocità di taglio di 500 mm/min (risoluzione 1 g, accuratezza 0,5%) (Figura 13).

Anche i lombi dopo cottura sono stati raffreddati, estratti dai sacchetti, tamponati con carta assorbente e fatti asciugare per circa 1 ora. Sono stati pesati e tagliati per ottenere la parte centrale di circa 7 cm, pesata e sottoposta a misura dello sforzo di taglio con il dispositivo Allo-Kramer sopra citato (Figura 13).

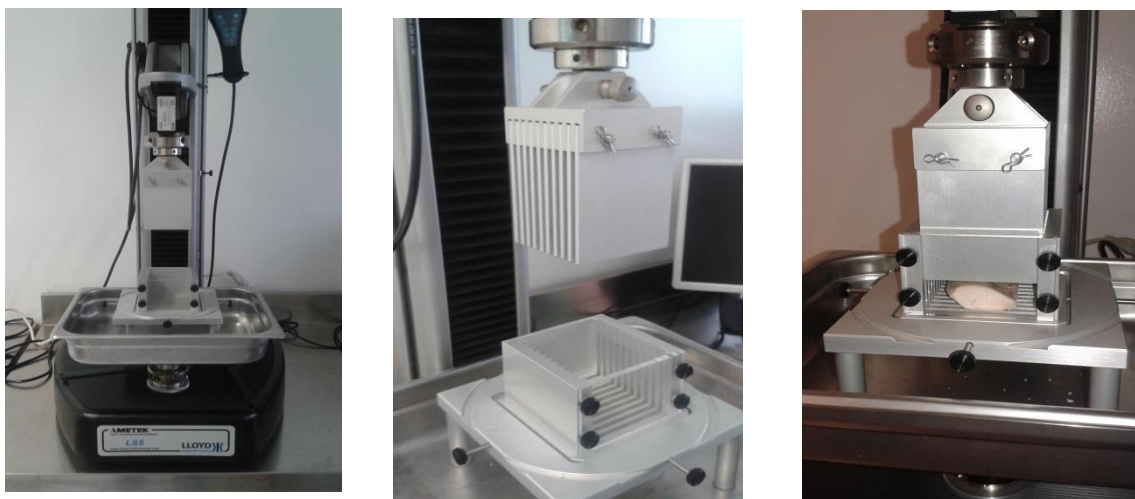


Figura. 13. Dinamometro mono-colonna con dispositivo Allo-Kramer per misurazione della tenerezza della carne

Indicatori fisiologici di stress

Prelievo del pelo

Prima della macellazione e al momento del rilievo del peso, da ogni coniglio è stato prelevato un campione rappresentativo di pelo da destinare alla determinazione dei glucocorticoidi. Il campione è stato conservato a -20°C fino al momento delle analisi.

Prelievo ematico

Subito dopo la giugulazione, è stato immediatamente prelevato un campione di sangue (20 ml) da 40 conigli per gruppo sperimentale (per un totale di 160 conigli). Il sangue è stato raccolto in provetta contenente litio-eparina e immediatamente analizzato per l'ematocrito. L'analisi dell'ematocrito è stata effettuata mediante caricamento del sangue nei capillari, centrifugazione (12.500 rpm, 5 min; MicroCL 17, Thermo Scientific, Germany), e lettura dell'ematocrito.

Di seguito, il campione di sangue eparinizzato è stato sottoposto a centrifugazione (3000 g, 10 minuti, 4°C) per separare il plasma; una frazione di plasma è stata immediatamente conservata a -20°C; un'altra frazione è stata trasferita (+4°C) presso i laboratori dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie per altre analisi ematiche.

Prelievo campioni di muscolo

Al momento dell'uscita dal tunnel di refrigerazione, dalle carcasse selezionate per la dissezione sono stati prelevati due campioni di muscolo *l. lumborum* in corrispondenza della parte craniale del muscolo. I campioni destinati al dosaggio di cortisolo, corticosterone e MDA sono stati mantenuti a -20°C.

Analisi degli indicatori plasmatici

Il plasma è stato utilizzato per la determinazione di creatinin-kinasi (CK), lattato deidrogenasi (LDH), lattato, glucosio, osmolarità, albumine e globuline presso i laboratori dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie.

La concentrazione dei parametri biochimici è stata determinata mediante analizzatore biochimico COBAS C501 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) utilizzando kit diagnostici commerciali della Roche Diagnostics (Tabella 6). La concentrazione del lattato è stata misurata con metodo colorimetrico enzimatico (Randox Laboratories Ltd., Ardmore, United Kingdom), applicato a strumentazione COBAS C501.

L'osmolarità è stata valutata utilizzando la seguente formula:

$$\text{Osmolarità (mOSM/kg)} = 2 * [\text{Na mmol/L}] + [\text{urea mmol/L}] + [\text{glucosio mmol/L}]$$

Le concentrazioni di albumina e globuline sono state determinate mediante elettroforesi delle proteine plasmatiche su gel di agarosio utilizzando lo strumento multiparametrico Hydrasis Phoresis (Sebia).

Tabella 6. Parametri biochimici e caratteristiche analitiche

Parametro	Metodo	Linearità	CV intra-serie (%)	CV inter-serie (%)	Ditta
CK	IFCC	7 - 2000 U/L	1.1	3.3	Roche
LDH	IFCC	10 - 1000 U/L	1.3	2.7	Roche
Lattato	Colorimetrico	0.17 -19.7 mmol/L	0.8	5.7	Randox
Glucosio	Esochinasi	0.11 - 41.6 mmol/L	0.7	1.2	Roche
Proteine totali	Biureto	2 - 120 g/L	0.9	2.5	Roche
Sodio	Potenziometria indiretta	80 - 180 mmol/L	0.3	0.5	Roche
Urea	UVcinetico (ureasi)	0.5 - 40 mmol/L	1.0	1.3	Roche

Determinazione dei glucocorticoidi

Corticosterone e cortisolo sono stati misurati mediante dosaggi radioimmunologici specifici (RIAs) dopo estrazione degli steroidi.

I campioni di muscolo e pelo sono stati preparati e sottoposti ad un protocollo di estrazione degli steroidi diverso a seconda della matrice utilizzata per l'analisi messo a punto presso il laboratorio di Fisiologia del Dipartimento di Biomedicina Comparata e Alimentazione. Nel caso del plasma si è utilizzato come solvente l'etere etilico e nel caso della carne e del pelo l'etanolo. L'efficacia delle metodiche di estrazione degli steroidi è stata valutata effettuando il test di resa estrattiva: ai campioni, prima di essere estratti, sono state aggiunte quantità note di steroide marcato e il dosaggio ha permesso di stabilire la percentuale di soluzione marcata recuperata dopo l'estrazione. Corticosterone (C) e cortisolo (HC) sono stati misurati nelle diverse matrici mediante dosaggio radioimmunologico (RIA) su micropiastra utilizzando anticorpi specie specifici come descritto in Simontacchi e coll. (1999) per altre specie. Il protocollo applicato nel presente studio prevedeva l'utilizzo di micropiastre a 96 pozzetti (Optiplate, Perkin Elmer Life Sciences) alle quali è stato fatto aderire un anticorpo anti- γ -globuline di coniglio prodotto nella capra. Allo scopo, la piastra è stata incubata con un antisiero diluito 1:1000 con tampone sodio acetato (0,15 mM, pH 9) a +4°C per 24 ore. Dopo questa prima incubazione, la piastra è stata svuotata e lavata con tampone RIA (Na₂HPO₄12H₂O 21,85 g/L; NaH₂PO₄H₂O 4,38 g/L; NaCl 9 g/L; BSA, albumina serica

bovina 0,17%; pH 7,2) e incubata nuovamente per 24 ore a +4°C con l'anticorpo specifico anticorticoosterone (Biogenesis, Poole, UK; diluizione 1:1000) e anticortisolo (Diametra, Milano, Italia; diluizione 1:30000) per ottenere un primo complesso anticorpo-anticorpo. Al termine dell'incubazione, si è proceduto con lo svuotamento della piastra e con lavaggio accurato dei pozzetti con tampone RIA e, a questo punto, sono stati caricati gli standard per il calcolo della curva di taratura, i controlli di qualità dell'analisi e i campioni da dosare ai quali è stato aggiunto l'antigene marcato (1,2,6,7-³H corticoosterone, NET399; 1,2,6,7-³H cortisolo, NET396, Perkin Elmer). La piastra così preparata è stata fatta nuovamente incubare per 24 ore a +4°C. A questa terza ed ultima incubazione è seguita la preparazione per il conteggio della radioattività: svuotamento dei pozzetti mediante pompa ad acqua per la raccolta del materiale radioattivo; lavaggi (tre) con tampone RIA; aggiunta di una soluzione scintillante (Microscint 20, Perkin Elmer Life Sciences) e sigillatura della piastra con pellicola termosaldabile (TopSeal-S Packard Instrument Co.). La lettura della radioattività è stata effettuata da un β -counter (Top-Count NXT-PerkinElmer) che, essendo dotato anche di un software di elaborazione, formula la curva di taratura per ogni piastra e restituisce direttamente i risultati dell'analisi in pg di ormone per pozzetto. Il dosaggio ha una sensibilità pari a 1,5 pg di ormone a pozzetto e gli anticorpi utilizzati presentano le seguenti cross-reattività:

- anti-corticoosterone: corticoosterone 100%, 11-deossicorticoosterone 1%, cortisolo 0,1%, progesterone 0,02%, testosterone <0,01%.

- anti-cortisolo: cortisolo 100%, prednisolone 46,2%, 11-deossicortisolo 4%, cortisone 3,69%, prednisone 3,15%, 11-OH progesterone 1%, progesterone <0,1%, aldosterone <0,1%, pregnenolone <0,1%, 17 β -estradiolo <0,1%, testosterone <0,1%, colesterolo <0,1%.

I dosaggi RIA per cortisolo e corticoosterone nelle diverse matrici sono stati validati mediante i test di parallelismo e ripetibilità. Il primo test ha l'obiettivo di verificare che a diluizioni seriali del campione corrisponda una proporzionale riduzione della concentrazione dell'ormone da dosare. Il test di ripetibilità misura la riproducibilità del sistema di analisi e si effettua inserendo fra i campioni incogniti alcuni campioni di controllo a concentrazioni note (in questo studio, 6 per ciascuna matrice). Questo test permette di valutare la riproducibilità all'interno dello stesso saggio (intra-assay) utilizzando come indice il coefficiente di variazione ($CV\% = \text{Deviazione Standard} \times 100 / \text{valore medio dei risultati}$). Un sistema di

analisi immunologica si ritiene presenti una buona riproducibilità se il CV intra-assay è minore del 10%.

Determinazione degli indicatori di stress ossidativo

Come indicatore di stress ossidativo, per quantificare la perossidazione lipidica nel muscolo di coniglio è stato utilizzato il saggio dell'acido tiobarbiturico (TBA) per la determinazione spettrofotometrica dei composti reattivi al TBA (TBARS, TBA-reactive substances) (Yoshida e coll., 2005). Allo scopo, 100 mg di muscolo sono stati addizionati con 5 volumi di tampone fosfato (pH 7,2), omogenati e centrifugati a 12000 g a +4°C per 10 minuti.

La reazione è stata innescata mescolando 0,025 ml di estratto di muscolo con 0,2 ml di sodio dodecil Solfato 8,1%, 1,5 ml di acido acetico 20% pH 3,5, 1,5 ml di acido tiobarbiturico 1%, 0,775 ml d'acqua, e 0,05 ml di butilidrossitoluene 0,8% in etanolo. I campioni così ottenuti sono quindi stati brevemente agitati ed incubati a 100°C per un'ora. Al termine dell'incubazione, i campioni sono stati raffreddati in ghiaccio ed agitati con l'aggiunta di 1 ml d'acqua e 5 ml di alcool n-butilico e piridina, in rapporto 15/1. Il surnatante ottenuto da un'ulteriore centrifugazione è stato prelevato e sottoposto a lettura dell'assorbanza a 535 nm mediante spettrofotometro (V-630, Jasco Europe, Italia). Il tetrametossipropano è stato utilizzato come standard (0-5 µM/10 ml) per stimare la formazione di TBARS come nanomoli equivalenti di MDA per ml di estratto di muscolo.

Analisi statistica

I risultati individuali di macellazione, qualità della carcassa e della carne, indicatori ematici e fisiologici di stress sono stati analizzati con PROC MIXED del SAS (SAS Institute, 2013), considerando come fattori di variabilità la durata del trasporto, la durata dell'attesa pre-macellazione, l'altezza e la posizione delle gabbie sul camion e le loro interazioni, e la gabbia come effetto casuale.

Risultati e discussione

Risultati

Prestazioni alla macellazione, qualità della carcassa e qualità della carne

Dai dati raccolti è emerso che l'aumento della durata del trasporto fino a 3 ore ha determinato una riduzione del peso vivo dei conigli al macello al momento dell'appendimento (2936 g vs 2849 g; $P<0,01$) e del peso della carcassa refrigerata dopo 3 h (1779 g vs 1763 g; $P=0,07$), mentre è significativamente aumentata la resa di macellazione (dal 61,3% al 61,9%; $P<0,01$) (Tabella 7). L'incidenza del fegato (3,50% vs 3,00%; $P=0,06$) e degli organi interni (3,01% vs 2,90%; $P<0,01$) sulla carcassa refrigerata è diminuita significativamente. In quanto alla dissezione della carcassa di riferimento non ci sono state differenze in funzione della durata del trasporto, se non un tendenziale aumento della resa della carcassa (86,0% vs 86,7%; $P=0,06$) ed un aumento dell'incidenza dei lombi (13,4% vs 14,0%; $P=0,05$) nei conigli trasportati per il tempo più lungo (Tabella 7). Per quanto riguarda le caratteristiche qualitative della carne, il prolungamento della durata del viaggio ha determinato un aumento del pH ed una diminuzione della luminosità della carne, misurati sia sul *longissimus lumborum* (5,64 vs 5,74 per il pH, 49,8 vs 47,6 per la luminosità; $P<0,01$) che sul *biceps femoris* (5,90 vs 6,01; $P<0,01$; 48,0 vs 47,4; $P=0,07$) (Tabella 8). In questo ultimo muscolo è stata anche misurata una diminuzione dell'indice del giallo (1,78 vs 0,92; $P<0,01$). Altre differenze significative hanno riguardato lo sforzo massimo di taglio misurato sui lombi (4,92 kg/g vs 4,60 kg/g; $P=0,06$) e le perdite di scongelamento sugli arti posteriori (2,24% vs 1,90%; $P<0,001$) che sono diminuiti nei conigli trasportati più a lungo (Tabella 9).

L'aumento della durata dell'attesa pre-macellazione, da 30 minuti a 3 ore, ha determinato un incremento nella resa di macellazione (61,4% vs 61,9%; $P=0,03$) ed un tendenziale aumento del peso della carcassa refrigerata a 24 ore (1746 g vs 1798 g; $P=0,06$), accompagnati da una riduzione dell'incidenza di testa (7,70% vs 7,48%; $P=0,02$), fegato (3,93% vs 2,57%; $P<0,01$) e organi interni (3,00% vs 2,88%; $P=0,03$) (Tabella 7). In realtà, l'analisi delle interazioni fra i fattori principali ha evidenziato risultati diversi per la resa di macellazione a 3 ore nei conigli sottoposti ad attese diverse in funzione della durata del trasporto (Tabella 10).

Tabella 7. Effetto della durata del trasporto (breve vs lunga), dell'attesa al macello (breve vs lunga), della collocazione in altezza (superiore vs inferiore) e della posizione (esterna vs interna) delle gabbie di macellazione sul camion di carico durante il trasporto: risultati di macellazione e dissezione carcasce.

	Trasporto breve		Trasporto lungo		Altezza gabbie sul camion		Posizione gabbie sul camion		Probabilità							DSR
	Attesa breve	Attesa lunga	Attesa breve	Attesa lunga	Superiore	Inferiore	Esterna	Interna	Trasporto (T)	Attesa (A)	Altezza (H)	Posizione (P)	T*A	T*H	T*P ³	
Conigli, n	80	80	80	80	160	160	160	160								
Peso macello, g	2944	2928	2836	2862	2904	2880	2871	2913	<0,01	0,89	0,44	0,17	0,49	0,43	<0,001	273
Carcassa fredda (3 h), g	1787	1811	1755	1771	1776	1786	1764	1798	0,07	0,31	0,58	0,08	0,86	0,20	<0,001	174
Resa mac. (3 h) ¹ , %	60,7 ^a	61,9 ^b	62,0 ^b	61,9 ^b	61,1	62,1	61,4	61,8	<0,01	0,03	<0,001	0,19	0,02	0,11	0,30	2,30
Conigli, n	40	40	40	40	80	80	80	80								
Carcassa fredda (24 h), g	1759	1811	1734	1784	1758	1785	1764	1780	0,34	0,06	0,32	0,55	0,97	0,74	<0,001	172
Testa, %	7,75 ^b	7,36 ^a	7,64 ^b	7,60 ^b	7,56	7,62	7,62	7,55	0,48	0,02	0,49	0,43	0,05	0,45	0,04	0,57
Fegato, %	4,16	2,84	3,70	2,29	3,42	3,07	3,18	3,32	0,06	<0,01	0,01	0,28	0,70	0,71	0,06	0,82
Organi interni ² , %	3,02	3,00	2,97	2,76	3,00	2,88	2,94	2,93	<0,01	0,03	0,02	0,85	0,07	0,86	0,29	0,32
Carcassa riferimento, g	1488	1545	1471	1518	1492	1518	1499	1512	0,36	0,03	0,29	0,59	0,83	0,75	<0,001	153
Resa carcassa di riferimento, %CF	85,0	87,0	85,8	87,5	86,1	86,5	86,4	86,3	0,06	<0,01	0,05	0,72	0,37	0,96	0,91	1,10
Grasso separabile, %	2,37	2,64	2,56	2,38	2,47	2,51	2,41	2,57	0,76	0,22	0,76	0,22	0,52	0,10	0,02	0,86
Lombi, %	12,8	14,0	13,5	14,5	13,6	13,8	13,7	13,7	0,05	0,04	0,19	0,77	0,84	0,46	0,57	0,89
Arti posteriori, %	33,2	32,2	33,2	32,0	32,6	32,8	32,7	32,6	0,60	0,05	0,20	0,50	0,62	0,37	0,14	0,98

DSR, deviazione standard residua.

¹Resa in funzione del peso al macello al momento dell'appendimento. ²Timo, trachea, cuore, polmoni, reni. ³Risultati dell'interazione T*P riportati nella Tabella 4.

Tabella 8. Effetto della durata del trasporto (breve vs lunga), dell'attesa al macello (breve vs lunga), della collocazione in altezza (superiore vs inferiore) e della posizione (esterna vs interna) delle gabbie di macellazione sul camion di carico durante il trasporto: qualità della carne

	Trasporto breve		Trasporto lungo		Altezza gabbie sul camion		Posizione gabbie sul camion		Probabilità							DSR
	Attesa breve	Attesa lunga	Attesa breve	Attesa lunga	Superiore	Inferiore	Esterna	Interna	Trasporto (T)	Attesa (A)	Altezza (H)	Posizione (P)	T*A	T*H	T*P ¹	
Conigli, n	40	40	40	40	80	80	80	80								
<i>Longissimus lumborum</i>																
pH	5,57	5,71	5,70	5,77	5,69	5,69	5,68	5,69	<0,01	0,06	0,86	0,73	0,05	0,56	0,57	0,12
Luminosità, L*	50,7	48,9	48,1	47,1	48,9	48,5	48,5	48,9	<0,01	0,31	0,40	0,39	0,49	0,02	0,17	3,03
Indice rosso, a*	-2,41	-2,47	-2,59	-2,05	-2,48	-2,29	-2,22	-2,54	0,37	0,08	0,17	0,02	0,03	0,68	0,01	0,87
Indice giallo, b*	1,08	0,13	0,22	-0,29	0,14	0,43	0,73	-0,16	0,34	0,54	0,42	0,01	0,52	0,81	0,02	2,15
<i>Biceps femoris</i>																
pH	5,82	5,98	5,96	6,06	5,96	5,96	5,96	5,96	<0,01	0,03	0,90	0,89	0,13	0,14	0,92	0,12
Luminosità, L*	48,8	47,2	47,2	47,5	47,5	47,8	47,4	47,9	0,07	0,11	0,45	0,22	0,01	0,03	0,04	2,32
Indice rosso, a*	-2,78	-2,74	-2,69	-2,67	-2,80	-2,64	-2,74	-2,69	0,26	0,66	0,02	0,47	0,89	0,86	0,15	0,44
Indice giallo, b*	1,52	2,04	0,87	0,98	1,26	1,45	1,42	1,29	<0,01	0,43	0,40	0,56	0,37	0,13	0,95	1,40

DSR, deviazione standard residua.

¹Risultati dell'interazione T*P riportati nella Tabella 5.

Tabella 9. Effetto della durata del trasporto (breve *vs* lunga), dell'attesa al macello (breve *vs* lunga), della collocazione in altezza (superiore *vs* inferiore) e della posizione (esterna *vs* interna) delle gabbie di macellazione sul camion di carico durante il trasporto: qualità della carne

	Trasporto breve		Trasporto lungo		Altezza gabbie sul camion		Posizione gabbie sul camion		Probabilità							DSR
	Attesa breve	Attesa lunga	Attesa breve	Attesa lunga	Superiore	Inferiore	Esterna	Interna	Trasporto (T)	Attesa (A)	Altezza (H)	Posizione (P)	T*A	T*H	T*P ¹	
Conigli, n	40	40	40	40	80	80	80	80								
Lombi																
Perdite scongelamento, %	10,9	12,3	10,2	12,1	11,6	11,1	11,6	11,2	0,58	0,21	0,23	0,24	0,50	0,17	0,03	20,27
Perdite cottura, %	30,7	28,8	31,0	29,4	30,0	30,0	30,0	29,9	0,13	<0,001	0,99	0,67	0,60	0,56	0,03	10,56
Sforzo massimo di taglio, kg/g	5,70	4,14	5,08	4,11	4,91	4,61	4,90	4,62	0,06	<0,001	0,07	0,10	0,08	0,19	<0,01	10,05
Arto posteriore																
Perdite scongelamento, %	2,50	1,98	1,97	1,74	2,11	1,99	2,06	2,04	<0,001	<0,001	0,21	0,85	0,11	0,77	0,78	0,58
Perdite cottura, %	25,2	24,7	24,5	25,8	25,0	25,1	25,0	25,1	0,34	0,04	0,92	0,37	<0,001	0,77	0,12	1,43
Sforzo massimo di taglio, kg/g	2,36	2,30	2,31	2,28	2,34	2,29	2,35	2,27	0,59	0,42	0,41	0,18	0,76	0,96	<0,01	0,37

DSR, deviazione standard residua.

¹Risultati dell'interazione T*P riportati nella Tabella 5.

In particolare, la resa di macellazione a 3 ore è risultata minore nei conigli trasportati per una sola ora e macellati subito dopo l'arrivo al macello (60,7%) rispetto ai conigli degli altri gruppi sperimentali (61,9%, 62,0% e 61,9% nei conigli dei gruppi TBL, TLB e TLL; probabilità dell'interazione durata del trasporto x durata dell'attesa, $P=0,02$) (Tabella 7).

Al momento della dissezione della carcassa di riferimento, l'effetto della durata dell'attesa al macello è stato evidenziato in termini di maggiore resa sul peso della carcassa fredda (87,3% vs 85,4%; $P<0,01$) e incidenza dei lombi (14,3% vs 13,2%; $P=0,04$) e minore incidenza degli arti posteriori (32,1% vs 33,2%; $P=0,05$) nei conigli macellati dopo la sosta più lunga al macello (Tabella 7).

Per quanto riguarda le caratteristiche qualitative della carne, il prolungamento dell'attesa ha modificato moderatamente il colore del *longissimus lumborum*, con un tendenziale aumento dell'indice del rosso (-2,50 vs -2,26; $P=0,08$) e del pH nel *biceps femoris* (5,89 vs 6,02; $P=0,03$) all'aumentare della sosta al macello (Tabella 8). L'analisi delle caratteristiche dei tagli principali ha evidenziato che l'attesa più lunga ha determinato una diminuzione significativa delle perdite di cottura (dal 30,9% al 29,1%; $P<0,001$) e dello sforzo massimo di taglio (5,39 kg/g vs 4,13 kg/g; $P<0,001$) nella carne dei lombi, oltre che una riduzione delle perdite di scongelamento (2,24% vs 1,86%; $P<0,001$) ed un aumento delle perdite di cottura per la carne degli arti posteriori (24,9% vs 25,5%; $P=0,04$) (Tabella 9).

La diversa collocazione in altezza delle gabbie di trasporto sul camion (superiore o inferiore) ha avuto un effetto meno marcato, seppure significativo, rispetto alla durata del trasporto e all'attesa prima della macellazione. La resa di macellazione è risultata significativamente superiore nei conigli delle gabbie posizionate alla base del pallet di trasporto (posizione inferiore) rispetto ai conigli posti all'interno delle gabbie posizionate in cima alla colonna di gabbie di trasporto (62,1% vs 61,1%; $P<0,001$), mentre è diminuita l'incidenza di fegato (3,42% vs 3,07%; $P=0,01$) e organi interni (3,00% vs 2,88%; $P=0,02$) (Tabella 7). In quanto alla qualità della carne, sono stati osservati un maggiore indice del rosso sul *biceps femoris* (-2,64 vs -2,80; $P=0,02$) (Tabella 8) e un minore sforzo di taglio dei lombi (4,61 kg/g vs 4,91 kg/g; $P=0,07$) (Tabella 9) sulla carne dei conigli trasportati nelle gabbie alla base del pallet rispetto a quelli delle gabbie in posizione superiore.

Considerando infine la posizione verso l'esterno delle gabbie sul camion di trasporto, esterna e interna, l'effetto è stato molto contenuto e limitato al colore del muscolo *longissimus lumborum*, con un indice del rosso (-2,22 vs -2,54; $P=0,02$) e un indice del giallo (0,73 vs -

0,16; P=0,01) maggiori nei conigli posizionati nelle gabbie esterne rispetto a quelli delle gabbie interne (Tabella 8). Le variazioni osservate, seppure significative, si sono mantenute in un intervallo molto ristretto e difficilmente apprezzabile da un punto di vista macroscopico e sensoriale.

Tuttavia, l'analisi delle interazioni significative fra i fattori principali ha evidenziato risultati diversi nei conigli trasportati per tempi diversi a seconda della posizione delle gabbie sul camion (Tabella 10).

Tabella 10. Effetto dell'interazione fra la durata del trasporto (breve vs lunga) e la posizione (esterna vs interna) delle gabbie di macellazione sul camion di carico durante il trasporto: risultati di macellazione e dissezione carcasce

	Trasporto breve		Trasporto lungo		Probabilità T*P
	Esterna	Interna	Esterna	Interna	
Conigli, n	80	80	80	80	
Peso al macello, g	2853 ^a	3018 ^b	2890 ^a	2808 ^a	<0,001
Carcassa refrigerata (3 h), g	1740 ^a	1857 ^b	1787 ^a	1793 ^a	<0,001
Resa di macellazione (3 h) ¹ , %	61,0	61,6	61,9	62,0	0,30
Conigli, n					
Carcassa refrigerata (24 h), g	1727 ^a	1843 ^b	1800 ^{ab}	1717 ^a	<0,001
Testa, %CF	7,69 ^b	7,43 ^a	7,56 ^{ab}	7,68 ^b	0,04
Fegato, %CF	3,31	3,69	3,05	2,94	0,06
Organi interni ² , %CF	3,04	2,98	2,84	2,89	0,29
Carcassa di riferimento, g	1468 ^{ab}	1564 ^c	1529 ^{bc}	1459 ^a	<0,001
Resa carcassa di riferimento, %PF	86,0	85,9	86,7	86,7	0,91
Grasso separabile, %CR	2,26 ^a	2,75 ^b	2,55 ^{ab}	2,39 ^{ab}	0,02
Lombi, %CR	13,3	13,5	14,0	14,0	0,57
Arti posteriori, %CR	32,9	32,6	32,5	32,6	0,14

In particolare, i conigli nelle gabbie del trasporto breve posizionate all'interno del camion, in posizione riparata dagli agenti atmosferici, sono risultati più pesanti al macello al momento dell'appendimento (3018 g) e hanno mantenuto carcasse più pesanti sia dopo 3 ore (1857 g) che dopo 24 ore di refrigerazione (1843 g) rispetto ai conigli degli altri gruppi (probabilità dell'interazione durata del trasporto x posizione gabbie trasporto, P<0,001) (Tabella 10). Diversamente, l'incidenza del grasso separabile dalla carcassa di riferimento è risultata minore nei conigli sottoposti a trasporto breve e mantenuti in gabbie esterne rispetto ai conigli sottoposti a trasporto breve e mantenuti in gabbie all'interno del carico (2,26% vs 2,75%) senza differenze significative con i conigli trasportati per un tempo maggiore; (probabilità dell'interazione, P=0,02) (Tabella 10).

Inoltre, in relazione alle caratteristiche qualitative della carne misurate sui tagli principali, la carne dei conigli trasportati per il tempo minore e posizionati esternamente sul camion ha presentato maggiori perdite di scongelamento (lombi: 12,2% vs 11,0%, 11,0% e 11,4%) e ha richiesto un maggiore sforzo per il taglio (lombi: 5,32 kg/g vs 4,51 kg/g, 4,43 kg/g e 4,73 kg/g; arto posteriore: 2,46 kg/g vs 2,21 kg/g, 2,25 kg/g e 2,34 kg/g) (Tabella 11). Anche alcuni indici di colore misurati su *l. lumborum* e *b. femoris* sono variati in maniera diversa in funzione dell'interazione considerata, ma entro intervalli ristretti e difficilmente apprezzabili a livello macroscopico (Tabella 11).

Tabella 11. Effetto dell'interazione fra la durata del trasporto (breve vs lunga) e la posizione (esterna vs interna) delle gabbie di macellazione sul camion di carico durante il trasporto: qualità della carne

	Trasporto breve		Trasporto lungo		Probabilità T*P
	Esterna	Interna	Esterna	Interna	
Conigli, n	40	40	40	40	
<i>Longissimus lumborum</i>					
Ph	5,64	5,64	5,72	5,74	0,57
Luminosità, L*	49,9	49,7	47,1	48,1	0,17
Indice rosso, a*	-2,11 ^b	-2,78 ^a	-2,33 ^b	-2,30 ^b	0,01
Indice giallo, b*	1,43 ^b	-0,22 ^a	0,02 ^a	-0,09 ^a	0,02
<i>Biceps femoris</i>					
pH	5,90	5,90	6,01	6,01	0,92
Luminosità, L*	48,2 ^b	47,9 ^b	46,7 ^a	47,9 ^b	0,04
Indice rosso, a*	-2,73	-2,78	-2,75	-2,60	0,15
Indice giallo, b*	1,85	1,72	0,98	0,86	0,95
Lombi					
Perdite di scongelamento, %	12,2 ^b	11,0 ^a	11,0 ^a	11,4 ^a	0,03
Perdite di cottura, %	30,1 ^{ab}	29,5 ^a	30,0 ^{ab}	30,4 ^b	0,03
Sforzo massimo di taglio, kg/g	5,32 ^b	4,51 ^a	4,43 ^a	4,73 ^a	<0,01
Arto posteriore					
Perdite di scongelamento, %	2,26	2,22	1,85	1,86	0,78
Perdite di cottura, %	25,0	24,9	24,9	25,4	0,12
Sforzo massimo di taglio, kg/g	2,46 ^b	2,21 ^a	2,25 ^a	2,34 ^a	<0,01

Indicatori fisiologici di stress

L'aumento della durata del trasporto ha determinato un moderato innalzamento del livello del lattato (9,59 mmol/l vs 10,16 mmol/l; P=0,02), e dell'osmolarità del sangue (315 mOsm/k vs 320 mOsm/k; P=0,03) e una diminuzione della lattato deidrogenasi (LDH) (209 U/l vs 191 U/l), delle proteine plasmatiche alfa-1 (4,19 g/l vs 3,89 g/l; P=0,01), gamma (4,47 g/l vs 3,69 g/l; P<0,01) e delle globuline (24,5 vs 23,1 g/l; P<0,01) (Tabella 12).

Tabella 12. Effetto della durata del trasporto (breve vs lunga), dell'attesa al macello (breve vs lunga), della collocazione in altezza (alto vs basso) e della posizione (esterna vs interna) delle gabbie di macellazione sul camion di carico durante il trasporto: variabili ematiche.

	Trasporto		Trasporto		Altezza gabbie sul		Posizione gabbie		Probabilità							DSR
	breve		lungo		camion		sul camion		Trasporto	Attesa	Altezza	Posizione	T*A	T*H	T*P	
	Attesa	Attesa	Attesa	Attesa	Superiore	Inferiore	Esterna	Interna								
	breve	lunga	breve	lunga												
Conigli, n	40	40	40	40	80	80	80	80								
CreatinKinasi, U/l	4034	5293	4554	4562	4804	4417	4503	4719	0,72	0,04	0,20	0,47	0,04	0,31	0,29	1889
Lattato, mmol/l,)	9,39	9,54	9,42	10,9	9,68	9,96	9,78	9,85	0,02	<0,01	0,37	0,82	0,03	0,13	0,16	1,99
LDH, U/l	204	214	214	167	204	196	199	201	0,02	0,02	0,30	0,81	<0,001	0,85	0,82	50,3
Osmolarità, mOsm/k	312	318	318	321	316	318	317	318	0,03	0,21	0,08	0,42	0,35	0,79	0,23	6,94
K, mmol/l	6,61	6,89	6,78	6,79	6,66	6,88	6,80	6,74	0,81	0,61	0,03	0,51	0,18	<0,001	0,79	0,62
Na, mmol/l	149	151	151	151	150	151	151	151	0,02	0,38	0,04	0,83	0,17	0,98	0,33	3,28
Urea, mmol/l	5,54	6,29	5,65	5,97	5,78	5,95	5,73	6,00	0,50	<0,001	0,22	0,06	0,14	0,04	0,94	0,93
Cl, mmol/l	102	103	103	105	103	104	104	103	0,14	0,34	<0,01	0,02	0,14	0,09	0,84	2,72
Glucosio, mmol/l	8,68	8,86	8,52	9,91	9,21	8,78	8,80	9,19	0,23	0,24	0,03	0,03	<0,01	0,97	0,10	1,14
Proteine tot, g/l	61,1	60,0	60,9	59,0	60,5	60,0	60,3	60,2	0,61	0,48	0,44	0,89	0,56	0,92	0,80	3,97
Albumina, g/l	36,3	38,9	38,7	38,4	38,0	38,1	38,1	38,1	0,20	0,41	0,84	0,95	<0,01	0,66	0,37	2,98
Alfa1, g/l	4,37	4,00	3,83	3,93	4,09	3,97	4,05	4,01	0,01	0,24	0,29	0,73	0,05	0,06	0,90	0,74
Alfa2, g/l	4,81	4,49	4,59	4,37	4,63	4,50	4,71	4,42	0,11	<0,01	0,18	<0,01	0,64	0,16	0,18	0,64
Beta1, g/l	5,71	5,44	5,47	5,26	5,54	5,41	5,48	5,46	0,09	0,05	0,28	0,83	0,81	0,81	0,54	0,76
Beta2, g/l	5,65	5,55	5,58	5,76	5,56	5,71	5,70	5,56	0,71	0,83	0,43	0,47	0,46	0,41	0,41	1,20
Gamma, g/l	4,71	4,22	3,74	3,63	4,33	3,82	4,11	4,04	<0,01	0,25	0,05	0,78	0,45	0,90	0,43	1,64
Globuline, g/l	25,2	23,7	23,2	22,9	24,1	23,4	24,1	23,5	<0,01	0,07	0,13	0,25	0,20	0,25	0,24	3,16
A/G	1,47	1,74	1,76	1,79	1,66	1,72	1,66	1,72	<0,001	<0,001	0,09	0,19	<0,01	0,16	0,15	0,25
Ematocrito	40,2	39,0	39,0	40,4	39,4	39,9	39,7	39,6	0,76	0,74	0,26	0,97	<0,01	0,59	0,43	2,74

DSR, deviazione standard residua.

Tabella 13. Effetto della durata del trasporto (breve *vs* lunga), dell'attesa al macello (breve *vs* lunga), della collocazione in altezza (alto *vs* basso) e della posizione (esterna *vs* interna) delle gabbie di macellazione sul camion di carico durante il trasporto: glucocorticoidi e indicatori di stress ossidativo in matrici diverse.

	Trasporto breve		Trasporto lungo		Altezza gabbie sul camion		Posizione gabbie sul camion		Probabilità							DSR
	Attesa breve	Attesa lunga	Attesa breve	Attesa lunga	Superiore	Inferiore	Esterna	Interna	Trasporto (T)	Attesa (A)	Altezza (H)	Posizione (P)	T*A	T*H	T*P	
Conigli, n	40	40	40	40	80	80	80	80								
Plasma																
Cortisolo, ng/ml	12,8 ^{ab}	10,4 ^a	10,7 ^a	16,1 ^b	12,8	12,1	13,2	11,8	0,24	0,59	0,51	0,08	<0,001	0,28	0,39	5,17
Corticosterone, ng/ml	18,2 ^b	12,4 ^a	9,0 ^a	11,1 ^a	14,4	10,9	13,0	12,4	<0,01	0,31	0,06	0,75	0,03	0,94	0,92	11,6
Muscolo																
Cortisolo, ng/g	1,35 ^a	1,44 ^a	1,27 ^a	2,13 ^b	1,52	1,57	1,60	1,49	0,03	0,06	0,58	0,11	<0,001	0,44	0,54	0,41
Corticosterone, ng/g	4,39 ^{ab}	4,88 ^b	3,55 ^a	4,68 ^b	4,72	4,54	4,67	4,58	0,97	0,11	0,45	0,65	<0,001	0,43	0,49	1,36
MDA, µM/g	23,7	19,3	20,5	20,0	23,1	18,6	20,1	21,7	0,67	0,63	0,02	0,36	0,29	0,67	0,17	10,23
Pelo																
Corticosterone, ng/g	65,1	100,9	73,4	122,5	46,5	134,4	97,6	83,3	0,11	<0,001	<0,001	0,13	0,47	0,80	0,15	36,5

DSR, deviazione standard residua.

All'aumentare della sosta al macello, i livelli di creatinina (CK) (4294 U/l vs 4928 U/l; $P=0,04$), lattato (9,41 mmol/l vs 10,2 mmol/l; $P<0,01$) ed urea (5,60 mmol/l vs 6,13 mmol/l; $P<0,001$) sono aumentati, mentre i livelli di LDH (209 U/l vs 191 U/l; $P=0,02$), proteine alfa-2 (4,70 g/l vs 4,43 g/l; $P<0,01$), beta-1 (5,59 g/l vs 5,35 g/l; $P=0,05$) e globuline (24,2 g/l vs 23,3 g/l; $P=0,07$) sono diminuiti, così come riportato in Tabella 12.

L'analisi delle variazioni degli indicatori fisiologici di stress in funzione dei fattori principali ha evidenziato che il prolungamento del tempo del trasporto ha diminuito il livello di corticosterone nel plasma (da 15,3 ng/ml a 10,1 ng/ml; $P<0,01$) e aumentato la concentrazione di cortisolo nel muscolo da 1,40 ng/g a 1,70 ng/g ($P=0,03$) (Tabella 13); il prolungamento dell'attesa al macello ha portato ad un aumento tendenzialmente significativo di cortisolo nel muscolo (1,31 ng/g vs 1,79 ng/g; $P=0,06$) e, soprattutto, corticosterone nel pelo (da 69,3 ng/g a 111,7 ng/g; $P<0,001$) (Tabella 13). In realtà, l'analisi dell'effetto delle interazioni significative fra il tempo di trasporto e la durata dell'attesa ha chiarito che *i*) la concentrazione di cortisolo nel plasma (16,1 ng/g) e nel muscolo (2,13 ng/g) sono maggiori con il tempo di trasporto e il tempo di attesa più lungo (TLL); *ii*) la concentrazione di corticosterone nel plasma è maggiore (18,2 ng/g) con il minore tempo di trasporto e il minore tempo di attesa (TBB), mentre ha un andamento differenziato nel muscolo (minore nei conigli del gruppo TLB rispetto ai conigli dei gruppi TBL e TLL) (Tabella 13).

In quanto all'altezza delle gabbie nel camion di trasporto, a livello plasmatico, i conigli all'interno delle gabbie posizionate più in alto hanno mostrato minori valori di osmolarità (316 mOsm/k vs 318 mOsm/k; $P=0,08$) e potassio (6,66 mmol/l vs 6,88 mmol/l; $P=0,03$) e un aumento di glucosio (8,78 mmol/l vs 9,21 mmol/l; $P=0,03$) e proteine plasmatiche gamma (3,82 g/l vs 4,33 g/l; $P=0,05$) (Tabella 12). Le variazioni dei livelli di sodio e cloro, seppure significative, sono risultate molto limitate in valore assoluto. Inoltre, la concentrazione di corticosterone nel plasma è risultata tendenzialmente minore per i conigli delle gabbie di trasporto in posizione inferiore rispetto a quelli delle gabbie superiori (10,9 ng/g vs 14,4 ng/g; $P=0,06$), mentre la concentrazione di corticosterone nel pelo è risultata maggiore negli stessi animali in posizione inferiore (134 ng/g vs 46,5 ng/g; $P<0,001$) (Tabella 13). Infine, il livello di MDA nel muscolo dei conigli collocati nelle gabbie inferiori è risultato minore rispetto a quello dei conigli nelle gabbie superiori (18,6 μ M/g vs 23,1 μ M/g; $P=0,02$) (Tabella 13).

In quanto alla posizione delle gabbie rispetto all'esposizione durante il trasporto, a livello plasmatico sono stati osservati un maggiore livello di urea (6,00 mmol/l vs 5,73 mmol/l;

P=0,06) e glucosio (9,19 mmol/l vs 8,80 mmol/l; P=0,03) e una minore concentrazione di cloro (103 mmol/l vs 104 mmol/l; P=0,02) e proteine alfa-2 (4,42 g/l vs 4,71 g/l; P<0,01) nei conigli delle gabbie interne rispetto a quelli delle gabbie esterne (Tabella 12). Nel plasma, la concentrazione di cortisolo è risultata moderatamente più elevata nei conigli delle gabbie esterne rispetto ai conigli delle gabbie interne (13,2 ng/ml vs 11,8 ng/ml; P=0,08) (Tabella 13).

Discussione

Dall'analisi dei risultati sopra riportati è emerso che durata del trasporto e dell'attesa, altezza e posizione delle gabbie sul camion, presi in considerazione nella presente Tesi, hanno influenzato in diversi modi la qualità della carcassa e della carne e la condizione generale di benessere degli animali.

Nelle condizioni climatiche e ambientali della presente sperimentazione, l'aumento della **durata del trasporto** da una a tre ore ha determinato una riduzione del peso vivo al macello al momento dell'appendimento e, quindi, della carcassa ed un incremento della resa di macellazione, come già descritto anche da altri autori (Lambertini e coll., 2006). Secondo alcuni autori (Trocino e coll., 2003; Petracci e coll., 2008) la resa di macellazione tende ad aumentare con la durata del trasporto da 0 a 4 ore, dopodiché decresce per viaggi di maggiore durata. Nelle prime quattro ore di trasporto, la riduzione di peso vivo, e l'aumento della resa sul peso all'appendimento, sono attribuibili alle perdite urinarie e fecali degli animali durante il trasporto. La riduzione di peso per viaggi di durata superiore dipende invece dalla disidratazione degli animali.

L'aumento della durata del trasporto ha modificato le caratteristiche qualitative della carne: nel presente studio, su entrambi i muscoli principali controllati, il pH è aumentato e la luminosità è diminuita con la durata del trasporto, confermando quanto già osservato da altri autori (Dal Bosco e coll., 1997; Lambertini e coll., 2006; Petracci e coll., 2009). Per viaggi di durata superiore a quanto utilizzato nella presente Tesi e fino a 8 ore, è stato anche riportato un marcato incremento dell'indice del rosso della carne (Dal Bosco e coll., 1997; Trocino e coll., 2003; Maria e coll., 2006). Le variazioni di pH della carne sono risultate direttamente correlate a perdite di cottura/scongelo e tenerezza della carne: le carni degli animali trasportati per il tempo maggiore e con il pH superiore sono risultate più dure e resistenti al taglio nel nostro caso, così come già riportato da diversi autori (Maria e coll., 2008; Dal

Bosco e coll., 1997). Liste e coll (2006; 2008) non hanno riscontrato differenze significative di pH o indice del rosso in conigli trasportati per 7 ore rispetto a conigli trasportati per un'ora, mentre hanno riportato una variazione dell'indice del giallo e, come da noi osservato, un aumento della durezza della carne all'aumentare della durata del viaggio.

Che il trasporto sia un evento potenzialmente stressante per i conigli è stato verificato in diverse sperimentazioni misurando le variazioni di indicatori a livello plasmatico e di glucocorticoidi in diverse matrici. In particolare, Fazio e coll. (2015) hanno osservato un aumento della concentrazione plasmatica di glucosio, lattato e proteine totali, oltre che dell'ematocrito, in conigli trasportati rispetto a conigli non sottoposti a trasporto; Buijs e coll. (2011) hanno evidenziato un aumento della concentrazione di glucocorticoidi nelle feci dei conigli in seguito a trasporto; Bertotto e coll. (2016) hanno sottolineato un significativo aumento significativo del livello di cortisolo nel plasma nei conigli trasportati.

La durata del trasporto e l'interazione con altri fattori (stagione, posizione delle gabbie nel camion) possono influire in maniera diversa sulla condizione generale degli animali. Nel nostro caso, l'aumento della durata del trasporto ha comportato un aumento del lattato e dell'osmolarità misurati sul plasma. In maniera simile, Liste e coll. (2006) hanno evidenziato un aumento significativo della concentrazione di glucosio, lattato e CK nei conigli trasportati per 7 ore rispetto a conigli trasportati per un'ora e con un trasporto effettuato durante la stagione estiva. L'aumento della concentrazione di CK con la durata del trasporto è stato confermato anche da Liste e coll. (2008) che hanno riportato anche un aumento della concentrazione di corticosterone plasmatico.

In altre pubblicazioni è stato preso in considerazione l'effetto del trasporto in diverse condizioni climatiche: De la Fuente e coll. (2004) hanno valutato l'effetto della stagione in cui il trasporto è stato effettuato, misurando un aumento degli indicatori fisiologici di stress (CK, LDH, lattato, glucosio, ematocrito ed osmolarità del sangue) nei conigli trasportati durante la stagione estiva rispetto a quelli trasportati in inverno. In climi caldi e umidi di tipo tropicale, i livelli ematici di glucosio, lattato, proteine totali, LDH, CK, ematocrito ed urea sono significativamente aumentati all'aumentare della durata del trasporto da 1 a 3 ore di viaggio (Nakyinsige e coll., 2013).

Per quanto riguarda l'effetto della **collocazione delle gabbie** nel camion di trasporto, Liste e coll. (2008) e Maria e coll. (2006; 2008) non hanno individuato variazioni qualitative della carcassa o della carne di coniglio in funzione dell'altezza delle gabbie sul camion.

Diversamente, nel nostro studio, è stata osservata una resa di macellazione sul peso all'appendimento significativamente maggiore nei conigli delle gabbie alla base della colonna che può lasciare supporre maggiori perdite di urine e feci in questi animali. D'altra parte, anche nel nostro caso, non sono state osservate rilevanti variazioni della qualità della carne. Secondo Liste e coll. (2006), la posizione delle gabbie nel camion ha un effetto sullo stress degli animali e, nelle loro condizioni, i conigli in posizione inferiore o media sono quelli che hanno presentato i maggiori livelli ematici di glucosio, CK e corticosterone rispetto a quelli delle gabbie superiori. Nel nostro studio, le variazioni delle stesse variabili non sono state coerenti con i risultati di questi ultimi autori. D'altra parte, la concentrazione nel pelo di corticosterone è risultata decisamente superiore nei conigli delle gabbie in posizione inferiore rispetto a quelli in posizione superiore, ad indicare una maggiore condizione di stress nei primi animali rispetto ai secondi da verificarsi con ulteriori studi. La situazione dei conigli nelle gabbie inferiori potrebbe essere più sfavorevole a causa della caduta delle feci e delle urine dei conigli che si trovano nelle gabbie superiori (pavimentazione forata in plastica) oltre che della maggiore esposizione ai rumori del camion e della strada.

Per quanto di nostra conoscenza, la posizione interna ed esterna delle gabbie dei conigli sul camion non è stato un fattore considerato fino a questo momento in bibliografia e, quindi, non sono ancora presenti risultati a riguardo. Nelle nostre condizioni, tuttavia, l'assenza di rilevanti effetti principali su risultati di macellazione, qualità della carcassa e della carne, e indicatori fisiologici di stress lascia supporre che questo tipo di fattore sia ininfluenza sulla condizione generale di benessere degli animali durante il trasporto. Va rilevato che le interazioni significative misurate fra posizione della gabbia e durata del trasporto hanno evidenziato alcune differenze fra i conigli mantenuti in posizione diversa (esterna o interna) e trasportati solo per un'ora, ma queste differenze scompaiono nel caso di un trasporto più lungo e fino a tre ore.

Per quanto riguarda l'effetto della durata dell'attesa pre-macellazione sulla qualità del prodotto e la condizione generale di benessere degli animali, tempi di attesa adeguati in condizioni ambientali idonee potrebbero avere un effetto positivo sulla condizione generale degli animali, permettendogli un certo tempo di recupero dopo il trasporto. In realtà, nel caso di attese pre-macellazioni di circa 5 ore, Petracci e coll. (2009) hanno riportato un peggioramento della qualità della carne in termini di aumento delle perdite di cottura e della forza necessaria per il taglio rispetto alla carne di conigli macellati in tempi brevi dopo il loro

scarico al macello. Diversamente, nel nostro caso e con sole tre ore di attesa pre-macellazione, l'aumento della durata dell'attesa ha determinato un aumento del pH muscolare sia su *l. lumborum* che su *b. femoris*, una diminuzione delle perdite di cottura e dello sforzo di taglio nel lombo, senza differenze nella tenerezza misurata sulla carne dell'arto posteriore. Da evidenziare che nelle nostre condizioni, l'attesa minore con il trasporto minore (TBB) è quella che ha determinato la condizione apparentemente peggiore sulla base della qualità della carne avendo dato un *l. lumborum* con il pH più basso e, soprattutto, la maggiore durezza delle carni. Il più basso pH a 24 ore dalla macellazione dei conigli del gruppo TBB può essere spiegato con il fatto che gli animali sono stati macellati subito dopo il trasporto nel momento di maggiore accumulo di acido lattico e senza possibilità di alcun recupero. In effetti, la concentrazione di corticosterone plasmatico è risultata maggiore proprio in questi conigli rispetto a quelli degli altri gruppi. Secondo Liste e coll. (2009) sarebbe opportuna un'attesa pre-macellazione di almeno 6 ore dopo il trasporto. Questi autori hanno infatti osservato una riduzione di lattato e corticosterone plasmatico nei conigli sottoposti a 8 ore di attesa pre-macellazione rispetto a quelli macellati dopo due ore di attesa, pur senza differenze nella qualità della carne.

Conclusioni

In conclusione, i risultati della presente Tesi hanno evidenziato che le modalità di trasporto possono influenzare i risultati di macellazione e la qualità della carcassa e della carne, oltre che la condizione generale di stress dei conigli.

La durata del trasporto e l'attesa pre-macellazione sono i fattori più importanti in grado di influenzare significativamente più variabili a diversi livelli, dai risultati di macellazione alla qualità della carcassa e della carne, fino agli indicatori fisiologici. Nelle condizioni della presente sperimentazione, con trasporti e attese di durata minima o moderata e in condizioni microclimatiche relativamente favorevoli, l'aumento della loro durata non necessariamente ha un effetto negativo sui parametri considerati e può anche tradursi in un miglioramento delle condizioni degli animali e della qualità della carne. Da evidenziare anche come i risultati di un trasporto breve o lungo possano poi essere modificati dalla diversa durata dell'attesa pre-macellazione che consente sempre un certo recupero delle condizioni generali degli animali.

In quanto alla collocazione delle gabbie all'interno del camion durante il trasporto, l'effetto della posizione delle gabbie in altezza (in cima o alla base del pallet di gabbie) necessita di ulteriori indagini e conferme: la condizione apparentemente peggiore degli animali collocati nelle gabbie alla base del pallet potrebbe dipendere dalla loro maggiore vicinanza ai rumori del mezzo di trasporto e della carreggiata o dalla maggiore esposizione alle urine e feci degli animali delle gabbie sovrastanti. In questo contesto, assumerebbe importanza la gestione pre-carico degli animali e l'adozione del digiuno pre-macellazione. Diversamente, l'esposizione agli agenti esterni sembra avere un ruolo piuttosto insignificante, influenzando pochi parametri di qualità della carne con variazioni difficilmente apprezzabili a livello macroscopico.

Bibliografia

Bertotto D., Radaelli G., Negrato E., Birolo M., Di Martino G., Xiccato G., 2016. Changes of stress indicators in different matrices in growing rabbits before and after transport. In: Proc. XI World Rabbit Congress, June 15-19, Qingdao, China, (accepted for publication).

Blasco A., Ouhayoun J., 1993. Harmonization of criteria and terminology in rabbit meat research. Revised proposal. World Rabbit Sci., 4, 93-99.

Buijs S., Keeling L.J., Rettenbacher S., Maertens L., Tuytens F.A.M., 2011. Glucocorticoid metabolites in rabbit faeces-Influence of environmental enrichment and cage size. Physiol. Behav. 104, 469-473.

Buil T., Marià G.A., Villarroel M., Liste G., Lopez M., 2004. Critical points in the transport of commercial rabbits to slaughter in Spain that could compromise animals' welfare. World Rabbit Sci. 12, 269-279.

Canali C., Diverio S., Barone A., Dal Bosco A., Beghelli V., 2000. The effect of transport and slaughter on rabbits reared in two different production systems. In: Proc. 7th World Rabbit Congress, July 4-7, Valencia, Spain, 511-517.

Carenzi C., Verga M., 2009. Animal welfare: review of scientific concept and definition. Ital. J. Anim. Sci. 8, 21-30.

Cavani C., Bianchi M., Petracci M., 2006. Relationship between transport and animal welfare in avian and rabbit species. In: Vitale A., Laviola G., Manciooco A., Adriani W. (Ed.). Course. Human and non-human animals interaction: contextual, normative and applicative aspects. Istituto Superiore di Sanità. December 18-19, Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2007 (Rapporti ISTISAN 07/40).

Cavani C., Petracci M., 2008. Qualità della carne di coniglio. In: Cerolini S., Marzoni Fecia di Cossato M., Romboli I., Schiavone A., Zaniboni L. (Eds.) Avicoltura e Coniglicoltura. Le Point Veterinaire Italie, 503-517.

Cavani C., Petracci M., Trocino A., Xiccato G., 2010. Advances in research on poultry and rabbit meat quality. Ital. J. Anim. Sci. 8, 741-750.

Cesari V., Toschi I., Grilli G., Ferrazzi V., Pisoni A., Cerioli M., Lavazza A., Brivio R., 2009. Management e benessere dell'allevamento cunicolo. Regione Lombardia, Quaderni di ricerca, 101. Disponibile al sito: http://www.izsler.it/izs_bs/allegati/695/QUADERNO%20RICERCA%20101.pdf. Accesso in marzo 2016.

Combes S., 2007. Valeur nutritionnelle de la viande de lapin. INRA Prod. Anim. 17, 373-383.

Combes S., Postollec G., Cauquil .L, Gidenne T., 2010. Influence of cage or pen housing on carcass traits and meat quality of rabbits. Animal 4, 295-302.

Costa L.N., 2009. Trasporto. In: Carenzi C., Panzera M. (Eds.) *Etologia Applicata e Benessere Animale*, vol 2-parte speciale. Le Point Veterinaire, Italie, 221-238.

Dal Bosco A., Castellini C., Bernardini M., 1997. Effect of transportation and stunning method on some characteristics of rabbit carcasses and meat. *World Rabbit Sci.* 5, 115-119.

Dal Bosco A., Castellini C., Mugnani C., 2002. Rearing rabbits on a wire net floor or straw litter: behaviour, growth and meat qualitative traits. *Livest. Prod. Sci.* 75, 149-156.

Dalle Zotte A., 2002. Perception of rabbit meat quality and major factors influencing the rabbit carcass and meat quality. *Liv. Prod. Sci.* 75, 11-32.

Dalle Zotte A., Pricz Z., Metzger S.Z., Szabo A., Radnai I., Biro-Nemeth E., Orova Z., Szendro Z.S., 2009. Response of fattening rabbits reared under different housing conditions. 2. Carcass and meat quality. *Liv. Sci.* 122, 39-47.

De la Fuente J., Diaz M.T., Ibàñez M., González de Chavarri E., 2007. Physiological response of rabbits to heat, cold, noise and mixing in the context of transport. *Anim. Welf.* 16, 41-47.

De la Fuente J., Salazar M.I., Ibàñez M., González De Chavarri E., 2004. Effects of season and stocking density during transport on live weight and biochemical measurements of stress, dehydration and injury of rabbits at time of slaughter. *Anim. Sci.* 78, 285-292.

Decreto Legislativo n.146/01. Attuazione della direttiva 98/54/CE relative alla protezione degli animali negli allevamenti. *Gazzetta Ufficiale*, n.45 del 24 aprile 2001.

EFSA (European Food and Safety Authority), 2004. Opinion of the Scientific Panel on “Animal Health and Welfare on a request from the Commission related to the welfare of animals during transport”. EFSA-Q-2003-094. *EFSA Journal* 44, 1-36.

EFSA (European Food and Safety Authority), 2005. Scientific opinion of the Scientific Panel on Animal Health and Welfare on “The impact of the current housing and husbandry systems on the health and welfare of farmed domestic rabbit”. EFSA-Q-2004-023. *EFSA Journal* 267, 1-31.

EFSA (European Food and Safety Authority), 2011. Scientific opinion concerning the welfare of animals during transport. EFSA-Q-2010-00053. *EFSA Journal* 9, 1966.

FAO (Food and Agriculture Organization) 2012. FAOSTAT, Livest. Prim. Disponibile al sito: <http://faostat.fao.org/site/569/DesktopDefault.aspx?PageID=569#ancor>. Accesso in marzo 2016.

FAO (Food and Agriculture Organization), 2013. FAOSTAT, Livest. Prim. Disponibile al sito: <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QL/E>. Accesso in marzo 2016.

FAWC (Farm Animal Welfare Committee), 2011. Education, communication and knowledge application in relation to farm animal welfare. Disponibile al sito: https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/324908/FAWC_report_on_education_communication_and_knowledge_application_in_relation_to_farm_animal_welfare.pdf. Accesso in aprile 2016.

Fazio F., Casella S., Giudice E., Gianneto C., Piccione G., 2015. Evaluation of secondary stress biomarkers during road transport in rabbit. *Liv. Sci.* 173, 106-110.

Ferrante V., 2009. Benessere animale. In: Carenzi C., Panzera M. (Eds.) *Etologia Applicata e Benessere Animale*, vol 1. Le Point Veterinaire, Italie, 27-48.

Finzi A., Gualterio L., 2008. Sviluppo della coniglicoltura. In: Cerolini S., Marzoni Fecia di Cossato M., Romboli I., Schiavone A., Zaniboni L. (Eds.) *Avicoltura e Coniglicoltura*. Le Point Veterinaire, Italie, 395-402.

FNOVI (Federazione Nazionale Ordini Veterinari Italiani), 2010. Dossier per il settore cunicolo. 27-28 novembre, Firenze, Italia. Disponibile al sito: [http://www.fnovi.it/sites/default/files/Consiglio%20Nazionale%20novembre%202010%20-%20Dossier%20per%20il%20settore%20Cunicolo%20con%20copertina\(1\).pdf](http://www.fnovi.it/sites/default/files/Consiglio%20Nazionale%20novembre%202010%20-%20Dossier%20per%20il%20settore%20Cunicolo%20con%20copertina(1).pdf). Accesso in marzo 2016.

Giovine G., Rottigni D., Marelli S.P., Redaelli V., Luzi F., 2013. Benessere animale in cunicoltura. *Intersezioni*, Organo di Informazione e Cultura Professionale dell'Ordine dei Dottori Agronomi e dei Dottori Forestali di Milano, 29, 1-4. Disponibile al sito: http://www.intersezioni.eu/public/art_401/29%20Zootecnia%20Giovine%20et%20al..pdf. Accesso in marzo 2016.

Hulot F., Ouhayoun J., 1999. Muscular pH and related traits in rabbits: a review. *World Rabbit Sci.* 7, 15-36.

ISMEA (Istituto di Servizi per Mercato Agricolo Alimentare), 2106. Conigli - Report mercati CUN. Disponibile al sito: <http://www.ismeaservizi.it/flex/cm/pages/ServeBLOB.php/L/IT/IDPagina/3357#747bf5>. Accesso in marzo 2016.

Jiezierski T.A., Konecka A.M., 1996. Handling and reared results in young rabbits. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 46, 243-250.

Lambertini L., Vignola G., Badiani A., Zagnini G., Formigoni A., 2006. The effect of journey time and stocking density during transport on carcass and meat quality in rabbits. *Meat Sci.* 72, 641-646.

Lazzaroni C., Biagini D., Lussiana C., 2009. Different rearing systems for fattening rabbits: performance and carcass characteristics. *Meat Sci.* 82, 200-204.

Linee di indirizzo inerenti il benessere nell'allevamento dei conigli, 2014. Ministero della Salute, Direzione generale della sanità animale e dei farmaci veterinari. Pubblicate il 31 luglio 2014. Disponibili al sito: http://www.izsler.it/izs_bs/allegati/2250/Linee%20di%20indirizzo%20conigli.pdf. Accesso in marzo 2016.

Linee Guida relative all'applicazione del Regolamento CE n. 1099 del 24 settembre 2009, relativo alla protezione degli animali durante l'abbattimento, Ministero della Salute, Direzione generale della sanità animale e dei farmaci veterinari. Pubblicate il 18 luglio 2014. Disponibili al sito:

https://www.regione.veneto.it/c/document_library/get_file?uuid=93f2ac8d-ec71-41fe-bd97-cbd89f5b85d4&groupId=10793. Accesso in marzo 2016.

Liste M.G., Marìa G.A., Buil T., García-Belnguer S., Chacòn G., Olleta J.L., Sañudo C., Villarroel M., 2006. Journey length and high temperatures: effects on rabbit welfare and meat quality. *DTW. Deutsche tierärztliche Wochenschrift* 113, 59-64.

Liste M.G., Marìa G.A., García-Belnguer S., Chacòn G., Gazzola P., Villarroel M., 2008. The effect of transport time, season and position on the truck on stress response in rabbits. *World Rabbit Sci.* 16, 229-235.

Liste M.G., Villarroel M., Chacòn G., Sañudo C., Olleta J.R., García-Belnguer S., Alierta S., Marìa G.A., 2009. Effect of lairage duration on rabbit welfare and meat quality. *Meat Sci.* 82, 71-76.

Luzi F., Xiccato G., Trocino A., 2009. Conigli. In: Carenzi C., Panzera M. (Eds.) *Etologia Applicata e Benessere animale*, vol. 2-Parte special. Le Point Veterinaire, Italie, 107-120.

Maertens L., Van Herck A., 2000. Performance of weaned rabbits raised in pens or in classical cages: First results. In: *Proc. 7th World Rabbit Congress*, Valencia, Spain, July 4-7 2000, 435-444.

Marìa G.A., Buil T., Liste G., Villarroel M., Sañudo C., Olleta J.L., 2006. Effects of transport time and season on aspects of rabbit meat quality. *Meat Sci.* 72, 773-777.

Marìa G.A., Liste G., Campo M.M., Villarroel M., Sañudo C., Olleta J.L., Alierta S., 2008. Influence of transport duration and season on sensory meat quality in rabbits. *World Rabbit Sci.* 16, 81-88.

Marìa G.A., Lopez M., Lafuente R., Mocè M.L., 2001. Evaluation of electrical stunning methods using alternative frequencies in commercial rabbits. *Meat Sci.* 57, 139-143.

Marongiu M.L., 2008. Tecnologia di allevamento. In: Cerolini S., Marzoni Fecia di Cossato M., Romboli I., Schiavone A., Zaniboni L. (Eds.) *Avicoltura e Coniglicoltura*. Le Point Veterinaire, Italie, 459-480.

Matics Z., Szendro Z., Odermatt M., Gerencsèr Z., Nagy I., Radnai I., Dalle Zotte A., 2014. Effect of housing conditions on production carcass and meat quality traits of growing rabbits. *Meat Sci.* 96, 41-46.

Metzger S., Kustos K., Szendro Z., Szabo A., Eiben C., Nagy I., 2003. The effect of housing system on carcass traits and meat quality of rabbits. *World Rabbit Sci.* 11, 1-11.

Nakyinsige K., Sazili A.Q., Aghwan Z.A., Zulkifli I., Goh Y.M., Fatimah A.B., 2013. Changes in blood constituents of rabbits subjected to transportation under hot, humid tropical conditions. *Asian Australas. J. Animal Sci.* 26, 874-878.

Paci G., Preziuso G., D'agata M., Russo C., Dalle Zotte A., 2013. Effect of stocking density and group size on growth performance, carcass traits and meat quality of out-door reared rabbits. *Meat Sci.* 93, 162-166.

Peiretti P.G., 2012. Effects of dietary fatty acids on lipid traits in the muscle and perirenal fat of growing rabbits fed fixed diets. *Animals* 2, 55-67.

Petracci M., 2013. Benessere del coniglio durante il trasporto. In: Corso di formazione “Benessere nel coniglio allevato industrialmente: aspetti pratici e orientamenti per la normativa”. Brescia, 24 settembre 2013.

Petracci M., Bianchi M., Buguzzi G., Cavani C., 2010. Preslaughter risk factors associated with mortality and bruising in rabbits. *World Rabbit Sci.* 18, 219-228.

Petracci M., Bianchi M., Cavani C., 2008. A critical appraisal of rabbit preslaughter conditions in a commercial production chain. In: *Proc. 9th World Rabbit Congress*, June 10-13, Verona, Italy, 1411-1416.

Petracci M., Bianchi M., Venturi L., Cremonini M.A., Cavani C., 2009. Effect of antemortem journey and lairage at abattoir on rabbit meat quality. *J. Muscle Foods* 20, 489-500.

Regolamento (CE) 1/2005 del Consiglio del 22 dicembre 2004 sulla protezione degli animali durante il trasporto e le operazioni correlate. Pubblicato dalla Gazzetta Ufficiale il 5 gennaio 2005.

Regolamento (CE) 1099/2009 del Consiglio del 24 settembre 2009 relativo alla protezione degli animali durante l'abbattimento. Pubblicato dalla Gazzetta Ufficiale il 18 novembre 2009.

Rennere M., 1982. La couleur de la viande et sa mesure. *Bull. Techn. C.R.Z.V. Theix INRA*, 47, 47-54

Rota Nodari S., Lavazza A., Candotti P., 2009. Technical note: rabbit welfare during electrical stunning and slaughter at a commercial abattoir. *World Rabbit Sci.* 17, 163-167.

Simontacchi C., Marinelli L., Gabai G., Bono G., Angeletti R., 1999. Accuracy in naturally occurring anabolic steroid assays in cattle and first approach to quality control in Italy. *Analyst* 124, 307-312.

Trocchi V., Riga F., 2005. I lagomorfi in Italia. Linee guida per la conservazione e la gestione. Min. Politiche Agricole e Forestali – Ist. Naz. Fauna Selvatica, Documenti Tecnici, 25, 1-128. Disponibile al sito: <http://www.lepreitalica.org/doc/trocchi%20e%20riga%202005.pdf>. Accesso in marzo 2016.

Trocino A., Filiou E., Tazzoli M., Birolo M., Zuffellato A., Xiccato G., 2015. Effects of floor type, stocking density, slaughter age and gender on productive and qualitative traits of rabbits reared in collective pens. *Animal* 9, 855-861.

Trocino A., Xiccato G., 2000. La carne di coniglio: come variano le richieste del consumatore e la qualità del prodotto. Disponibile al sito: <http://www.pubblicitaitalia.com/eurocarni/2000/8/1420.html>. Accesso in marzo 2016.

Trocino A., Xiccato G., 2006. Animal welfare in reared rabbits: a review with emphasis on housing systems. *World Rabbit Sci.* 14, 77-93.

Trocino A., Xiccato G., Majolini D., Fragkiadasiks M., 2008. Effect of cage floor and stocking density on growth performance and welfare on group-housed rabbits. In: *Proc 9th World Rabbit Congress*, June 10-13, Verona, Italy, 1251-1256.

Trocino A., Xiccato G., Queaque P.I., Sartori A., 2003. Effect of transport duration and gender on rabbit carcass and meat quality. *World Rabbit Sci.* 11, 23-32.

Trocino A., Xiccato G., Queaque P.I., Sartori A., 2004. Group housing of growing rabbits: effect of stocking density and cage floor on performance, welfare and meat quality. In *Proc. 8th World Rabbit Congress*, September 7-10, Puebla, Mexico, 1277-1282.

Verga M., Luzi F., Petracci M., Cavani C., 2009. Welfare aspects in rabbit rearing and transport. *Ital. J. Anim. Sci.* 8, 191-204.

Verga, M., Luzi, F., Szendro, Z., 2006. Behaviour of growing rabbits. In: Maertens L., Coudert P. (Eds.) *Recent Advances in Rabbit Sciences*. Merelbeke, Belgium, 91-97.

Villalobos O., Guillén O., García J., 2008. Effect of cage density on performance of fattening rabbits under heat stress. In: *Proc. 9th World Rabbit Congress*, June 10-13, Verona, Italy, 1631-1636.

Xiccato G., Parigi Bini R., Dalle Zotte A., Carazzolo A., 1994. Effect of age, sex and transportation on the composition and sensory properties of rabbit meat. In *Proc. 40th Int. Congr. Meat Sci. Techn.*, W2.02.

Yoshida Y., Itoh N., Havakawa M., Piga R., Cynshi O., Jishage K., Niki E., 2005 .Lipid peroxidation induced by carbon tetrachloride and its inhibition by antioxidant as evaluated by an oxidative stress marker, HODE. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 208, 87-97.

Zoccarato I., 2008. Sviluppo della conigliicoltura. In: Cerolini S., Marzoni Fecia di Cossato M., Romboli I., Schiavone A., Zaniboni L. (Eds.) *Avicoltura e Conigliicoltura*. Le Point Veterinaire, Italie, 389-393.